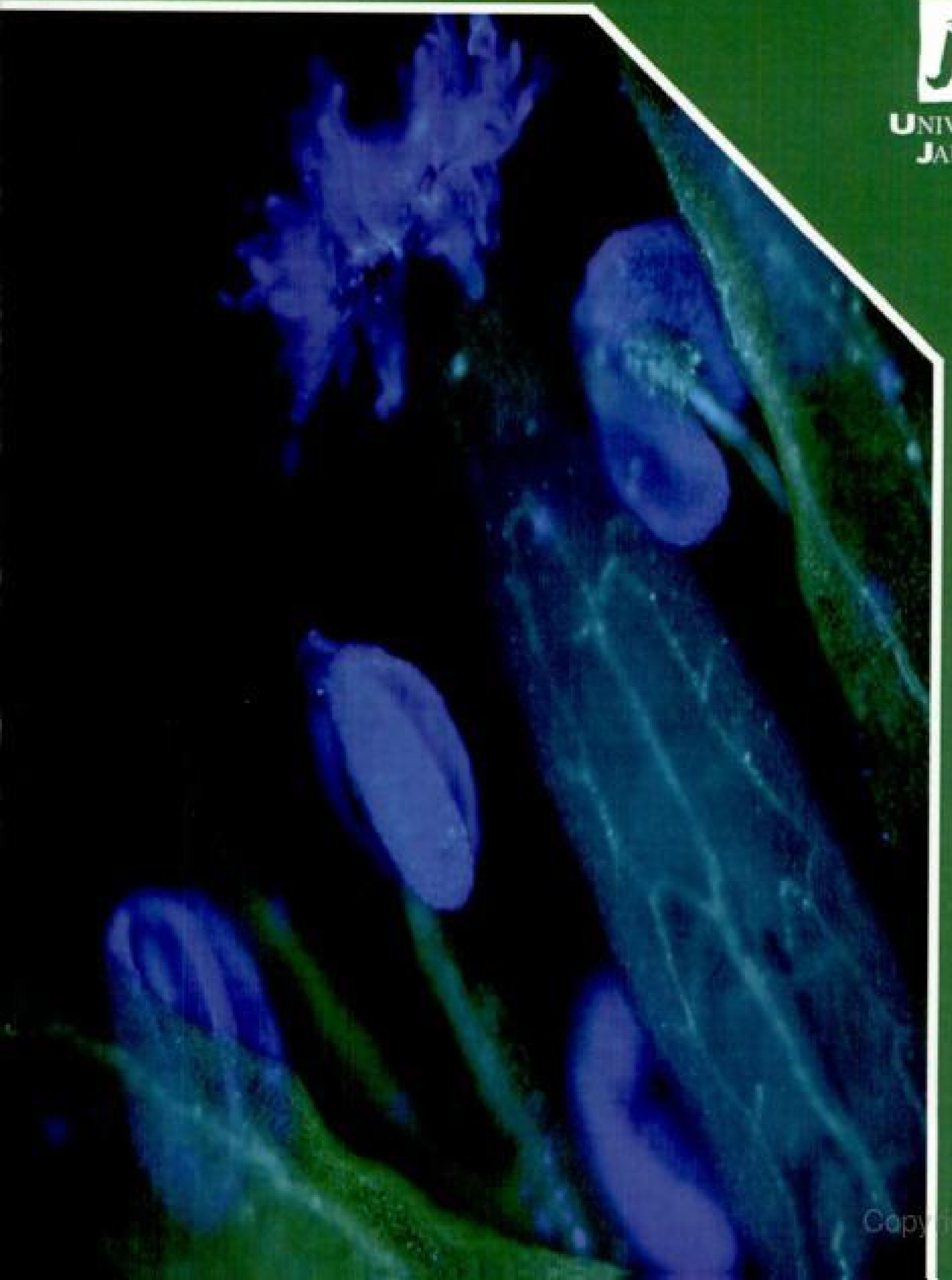
FISIOLOGÍA VEGETAL

Volumen 2

Lincoln Taiz y Eduardo Zeiger



UNIVERSITAT JAUME·I

Col·lecció «Ciències experimentals»

VISIT…

LANZAROTE
Caliente.COM

Col·lecció
«Ciències experimentals»
Núm. 10

FISIOLOGÍA VEGETAL

(Volumen II)

Lincoln Taiz
Universidad de California, Los Angeles

Eduardo Zeiger
Universidad de California, Los Angeles

UNIVERSITAT
JAUME·I

This One
N761-X31-UPHB
Copyrighted material

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSITAT JAUME I. Dades catalogràfiques

TAIZ, Lincoln

Fisiología vegetal / Lincoln Taiz, Eduardo Zeiger. — Castelló de la Plana : Publicacions de la Universitat Jaume I, D.L. 2006
p. : il. ; cm. — (Ciències experimentals ; 10)
Traducció de: Plant physiology, 3rd. ed. — Bibliografia. Index. Glossari.
ISBN 978-84-8021-601-2 (o.c.). — 979-84-8021-599-2 (v.1) .
— 978-84-8021-600-5 (v.2)
1. Fisiologia vegetal. I. Zeiger, Eduardo, coaut. II Universitat Jaume I. Publicacions, ed. III. Títol. IV. Sèrie.
581.1

FOTOCOPIAR LLIBRES
NO ÉS LEGAL

Cap part d'aquesta publicació, incloent-hi el disseny de la coberta, no pot ser reproduïda, emmagatzemada, ni transmesa de cap manera, ni per cap mitjà (elèctric, químic, mecànic, òptic, de gravació o bé de fotocòpia) sense autorització prèvia de la marca editorial

Foto de la portada
Flor de *Arabidopsis thaliana* por microscopía de epifluorescencia.
© Victor Flors Herrero, 2006

La edición original de esta obra ha sido publicada en inglés por
Sinauer Associates, Inc, con el título
PLANT PHYSIOLOGY, THIRD EDITION

© 2002 by Sinauer Associates, Inc.
23 Plumtree Road/PO Box 407. Sunderland, MA 01375 U.S.A.
FAX: 413-549-1118. Email: publish@sinauer.com. www.sinauer.com

© De la present edició: Publicacions de la Universitat Jaume I, 2006

Edita: Publicacions de la Universitat Jaume I. Servei de Comunicació i Publicacions
Campus del Riu Sec. Edifici Rectorat i Serveis Centrals. 12071 Castelló de la Plana
Fax 964 72 88 32
www.tenda.uji.es e-mail: publicacions@uji.es

ISBN 978-84-8021-601-2 (o.c.). 978-84-8021-599-2 (v.1) . 978-84-8021-600-5 (v.2)

Dipòsit legal: B-55.674-2006

Imprimeix: Book Print Digital, SA

ÍNDICE DE MATERIAS

VOLUMEN II

UNIDAD III
CRECIMIENTO Y DESARROLLO

14. [En la página web] EXPRESIÓN GÉNICA Y TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL 583

15. PAREDES CELULARES: ESTRUCTURA, BIOGÉNESIS Y EXPANSIÓN 587

Estructura y síntesis de las paredes celulares vegetales 588
Las paredes celulares vegetales pueden tener arquitecturas diversas 589
La pared primaria está formada por microfibrillas de celulosa embebidas en una matriz de polisacáridos 592
Las microfibrillas de celulosa se sintetizan en la membrana plasmática 594
Los polímeros de la matriz se sintetizan en el aparato de Golgi y son secretados en vesículas 600
Las hemicelulosas son polisacáridos de la matriz que se unen a la celulosa 601
Las pectinas son componentes formadores del gel de la matriz 602
Las proteínas estructurales se entrecruzan en la pared 606
Las nuevas paredes primarias se ensamblan durante la citocinesis 608
Las paredes secundarias se forman en algunas células cuando cesa la expansión celular 610

Patrones de expansión celular 612
La dirección de la expansión celular en las células con crecimiento difuso está determinada por la orientación de las microfibrillas de celulosa 613
Los microtúbulos corticales determinan la orientación de las microfibrillas de celulosa recién depositadas 615

Velocidad de elongación celular .618
La relajación de la tensión de la pared celular promueve la absorción de agua y la elongación celular .619
La velocidad de la expansión celular está gobernada por dos ecuaciones de crecimiento .620
El crecimiento inducido por ácido está mediado por expansinas .623
Las glucanasas y otros enzimas hidrolíticos pueden modificar la matriz .626
El cese de la expansión celular está acompañado por muchos cambios estructurales .627

Degradación de la pared y defensa vegetal .628
Los enzimas median la hidrólisis y la degradación de la pared .628
El ataque patogénico va acompañado por un estallido oxidativo .629
Los fragmentos de la pared actúan como moléculas de señalización .629

Resumen .631

16. CRECIMIENTO Y DESARROLLO .637

Embriogénesis .638
La embriogénesis establece las características esenciales de la planta madura .639
El embrión de *Arabidopsis* pasa por cuatro etapas distintas de desarrollo .642
El patrón axial del embrión se establece durante la primera división celular del zigoto .643
El patrón radial en la diferenciación de los tejidos se observa por primera vez en el estado globular .645
La embriogénesis requiere la expresión de genes específicos .646
La maduración del embrión requiere la expresión de genes específicos .652

El papel de la citocinesis en el patrón de formación .652
El patrón de división estereotípico no se requiere en los patrones axial y radial de diferenciación tisular .653
Un mutante de *Arabidopsis* con una citocinesis defectuosa no puede establecer el patrón radial tisular .654

Los meristemos en el desarrollo vegetal .656
El meristemo apical caulinar es una estructura muy dinámica .657
El meristemo apical caulinar contiene diferentes zonas y capas funcionales .657

Algunos meristemos se forman durante el desarrollo postembrionario 659
Los meristemos axilar, floral y de inflorescencia caulinares son variantes del meristemo vegetativo 660

Desarrollo de la hoja 661
La disposición de los primordios foliares está programada genéticamente 663

Desarrollo de la raíz 664
El ápice radical tiene cuatro zonas de desarrollo 664
Las células madre de la raíz generan hileras longitudinales de células 666
Los meristemos apicales radicales contienen varios tipos de células madre 667

Diferenciación celular 669
Se forma una pared celular secundaria durante la diferenciación de los elementos traqueales 669

Inicio y regulación de las rutas de desarrollo 673
Los genes de los factores de transcripción controlan el desarrollo 674
Muchas rutas de señalización vegetal utilizan proteína quinasas 676
El destino de una célula viene determinado por su posición 677
Las rutas de desarrollo están controladas por redes de genes que interactúan 679
El desarrollo está regulado por la señalización célula a célula 681

Análisis del crecimiento vegetal 689
El crecimiento vegetal se puede medir de diferentes formas 690
La producción de células por el meristemo es comparable a una fuente 691
Los elementos tisulares se desplazan durante la expansión 693
A medida que las regiones se alejan del ápice, sus tasas de crecimiento aumentan 693
El comportamiento de la tasa de crecimiento es una descripción espacial del crecimiento 695

Senescencia y muerte celular programada 695
Las plantas muestran varios tipos de senescencia 596
La senescencia es una serie ordenada de acontecimientos citológicos y bioquímicos 698

La muerte celular programada es un tipo especializado de senescencia 698

Resumen 699

17. EL FITOCROMO Y EL CONTROL POR LA LUZ DEL DESARROLLO VEGETAL 709

Las propiedades fotoquímicas y bioquímicas del fitocromo 711
El fitocromo puede interconvertirse entre las formas Pr y Pfr 713
Pfr es la forma fisiológicamente activa del fitocromo 715
El fitocromo es un dímero formado por dos polipéptidos 716
La fitocromobilina es sintetizada en los plastos 717
Tanto el cromóforo como la proteína sufren cambios conformacionales 718
Se han identificado dos tipos de fitocromos 718
El fitocromo está codificado por una familia multigénica 719
Los genes *PHY* codifican dos tipos de fitocromos 720

Localización del fitocromo en tejidos y células 721
El fitocromo puede detectarse en tejidos por espectrofotometría 721
El fitocromo se expresa de forma diferencial en los tejidos 722

Características de las respuestas inducidas por fitocromo en plantas completas 723
Las respuestas del fitocromo varían en el período de latencia y en el tiempo de escape 724

Las respuestas del fitocromo se pueden clasificar de acuerdo con la cantidad de luz necesaria 724
Las respuestas de muy baja fluencia no son fotorreversibles 726
Las respuestas de baja fluencia son fotorreversibles .726
Las respuestas de alta irradiancia son proporcionales a la fluencia y a la duración 727
El espectro de acción de HIR de plántulas etioladas tiene picos en las regiones del rojo lejano, del azul y del UV-A 728
El espectro de acción de la HIR de las plantas verdes tiene un pico principal en el rojo 729

Funciones ecológicas: Evitar la sombra 730
El fitocromo permite a las plantas adaptarse a los cambios en las condiciones luminosas 731

Funciones ecológicas: Los ritmos circadianos .734
El fitocromo regula los movimientos nocturnos de las hojas .734
Se han identificado los genes del reloj circadiano de *Arabidopsis* .737

Funciones ecológicas: La especialización del fitocromo .738
El fitocromo B media las respuestas a la luz continua del rojo o blanca .738
El fitocromo A es necesario para la respuesta a la luz continua del rojo lejano .739
Se están dilucidando las funciones de los fitocromos C, D y E en el desarrollo .740
Las interacciones de los fitocromos son importantes en las fases tempranas de la germinación .741

Dominios funcionales del fitocromo .742

Mecanismos celulares y moleculares .743
El fitocromo regula los potenciales de membrana y los flujos iónicos .744
El fitocromo regula la expresión génica .745
Tanto el fitocromo como el ritmo circadiano regulan *LHCB* .747
El oscilador circadiano implica un bucle transcripcional de retroalimentación negativa .748
Las secuencias reguladoras controlan la transcripción regulada por la luz .749
El fitocromo se mueve hacia el núcleo .750
El fitocromo actúa a través de múltiples rutas de transducción de señal .752

La acción del fitocromo puede estar modulada por la acción de otros fotorreceptores .756

Resumen .757

18. LAS RESPUESTAS A LA LUZ DEL AZUL: MOVIMIENTOS ESTOMÁTICOS Y MORFOGÉNESIS .765

La fotofisiología de las respuestas a la luz del azul .767
La luz del azul estimula el crecimiento asimétrico y la curvatura .767
¿Cómo detectan las plantas la dirección de la señal luminosa? .770
La luz del azul inhibe rápidamente la elongación del tallo .771
La luz del azul regula la expresión génica .773
La luz del azul estimula la apertura estomática .774

La luz activa una bomba de protones en la membrana plasmática de la célula guarda .779
Las respuestas de la luz del azul tienen cinéticas y períodos de latencia característicos .781
La luz del azul regula las relaciones osmóticas de las células guarda .782
La sacarosa es un soluto osmóticamente activo en las células guarda .784

Los fotorreceptores de la luz del azul .786
Los criptocromos están implicados en la inhibición de la elongación del tallo .786
Las fototropinas están implicadas en el fototropismo y en los movimientos del cloroplasto .788
El carotenoide zeaxantina está implicado en la fotorrecepción de las células guarda .789

Transducción de señal .794
Los criptocromos se acumulan en el núcleo .794
La fototropina se une a FMN .795
La isomerización de la zeaxantina podría iniciar una cascada que media la apertura estomática estimulada por la luz del azul .796
El ciclo de las xantofilas confiere plasticidad a las respuestas estomáticas a la luz .799

Resumen .800

19. AUXINA: LA HORMONA DEL CRECIMIENTO .807

El nacimiento del concepto de auxina .808

La biosíntesis y el metabolismo de las auxinas .811
La principal auxina de las plantas superiores es el ácido indol-3-acético .811
Las auxinas se pueden cuantificar en las muestras biológicas .812
El IAA se sintetiza en meristemos, hojas jóvenes, frutos en desarrollo y semillas .813
Existen muchas rutas para la biosíntesis del IAA .815
El IAA también se puede sintetizar a partir del indol-3-glicerol fosfato .817
La mayor parte del IAA en la planta está unida covalentemente .819
El IAA es degradado por múltiples rutas .820
Existen dos orgánulos de acumulación de IAA en la célula: el citosol y los cloroplastos .822

El transporte de auxinas .822
El transporte polar necesita energía y es independiente de la gravedad .823
Se ha propuesto un modelo quimiosmótico para explicar el transporte polar .825
Los inhibidores del transporte de auxina bloquean el flujo de salida de auxina .829
Las proteínas PIN son rápidamente recirculadas a y desde la membrana plasmática .830
Los flavonoides actúan como ATI endógenos .832
La auxina es también transportada de forma no polar a través del floema .833

Efectos fisiológicos de las auxinas: elongación celular .834
Las auxinas inducen el crecimiento en tallos y coleóptilos e inhiben el crecimiento en raíces .835
Los tejidos exteriores de los tallos de las dicotiledóneas son las dianas de la acción de las auxinas .837
El período de latencia mínimo para el crecimiento inducido por auxinas es de diez minutos .837
La auxina aumenta rápidamente la extensibilidad de la pared celular .838
La salida de protones inducida por auxinas acidifica la pared celular y aumenta la expansión celular .839
La salida de protones inducida por auxinas puede implicar tanto la activación como la síntesis de H^+-ATPasas .841

Efectos fisiológicos de las auxinas: fototropismo y gravitropismo .843
El fototropismo está mediado por la redistribución lateral de auxina .843
El gravitropismo también implica la redistribución lateral de auxina .846
Los estatolitos actúan como sensores de la gravedad en tallos y raíces .848
La auxina está distribuida lateralmente en la cofia radical .851
PIN3 se redistribuye lateralmente hacia el lado inferior de las células de la columela de la raíz .854
La sensibilidad a la gravedad parece tener al calcio y al pH como segundos mensajeros .855

Efectos de las auxinas sobre el desarrollo .856
Las auxinas regulan la dominancia apical .857
Las auxinas promueven la formación de las raíces laterales y adventicias .859
Las auxinas retrasan el inicio de la abscisión de las hojas .861
El transporte de auxinas regula el desarrollo floral de las yemas .861

Las auxinas regulan el desarrollo del fruto .862
Las auxinas inducen la diferenciación vascular .863
Las auxinas sintéticas tienen una gran variedad de usos comerciales .864

Las rutas de transducción de la señal de las auxinas .865
La ABP1 funciona como receptor de las auxinas .865
El calcio y el pH intracelular son posibles intermediarios de señalización .866
Los genes inducidos por auxinas se clasifican en dos categorías: tempranos y tardíos .866
Los dominios de respuesta a auxinas son estructuras compuestas .868
Los genes de respuesta temprana a auxinas están regulados por factores de respuesta a auxinas .869

Resumen .870

20. GIBERELINAS: REGULADORES DE LA ALTURA DE LAS PLANTAS .881

El descubrimiento de las giberelinas .882

Los efectos fisiológicos de las giberelinas .884
Las giberelinas estimulan el crecimiento del tallo de plantas enanas y plantas en roseta .885
Las giberelinas regulan la transición desde la fase juvenil a la adulta .887
Las giberelinas influyen en el inicio de la floración y en la determinación del sexo .887
Las giberelinas promueven el cuajado del fruto .888
Las giberelinas promueven la germinación de la semilla .888
Las aplicaciones comerciales de las giberelinas .889

Biosíntesis y metabolismo de las giberelinas .891
Las giberelinas se miden a través de técnicas físicas extremadamente sensibles .891
Las giberelinas se sintetizan a partir de la ruta terpenoide en tres etapas .892
Se han caracterizado los enzimas y los genes de la ruta de biosíntesis de las giberelinas .896
Las giberelinas pueden estar unidas covalentemente a azúcares .897
La GA_1 es la giberelina biológicamente activa en el control del crecimiento del tallo .897

Los niveles endógenos de GA_1 están correlacionados con la altura 898
Las giberelinas son biosintetizadas en los tejidos apicales 900
Las giberelinas regulan su propio metabolismo 901
Las condiciones ambientales pueden alterar la transcripción de los genes de la biosíntesis de giberelinas 902
Las auxinas promueven la biosíntesis de giberelinas 907
El enanismo puede ser modificado genéticamente .910

Los mecanismos fisiológicos del crecimiento inducido por giberelinas 911
Las giberelinas estimulan la elongación celular y la división celular 913
Las giberelinas aumentan la extensibilidad de la pared celular sin acidificarla 914
Las giberelinas regulan la transcripción de las quinasas del ciclo celular en los meristemos intercalares 915
Los mutantes que no responden a giberelinas tienen defectos en la transducción de la señal 916
Diferentes búsquedas genéticas han identificado los represores relacionados GAI y RGA 918
Las giberelinas provocan la degradación de los represores transcripcionales RGA 920
Se han identificado los represores DELLA en plantas cultivadas 922
El regulador negativo SPINDLY es un enzima que altera la actividad proteica 922
SPY actúa antes que *GAI* y *RGA* en la cadena de transducción de señal de las giberelinas 923

La transducción de la señal en giberelinas: la capa de aleurona de los cereales 925
La giberelina estimula en el embrión la producción de α-amilasa por las capas aleurona 925
El ácido giberélico aumenta la transcripción del mRNA de la α-amilasa . . .928
El factor de transcripción *GA-MYB* regula la expresión del gen de la α-amilasa 930
Los receptores de giberelinas pueden interactuar con las proteínas G de la membrana plasmática 931
El GMP cíclico, el Ca^{2+} y las proteína quinasas son posibles intermediarios en la señalización 932
La ruta de transducción de señal de las giberelinas es similar al crecimiento y producción de α-amilasa 934

Resumen 936

21. CITOQUININAS: REGULADORES DE LA DIVISIÓN CELULAR .943

La división celular en el desarollo vegetal .943
Las células vegetales diferenciadas pueden reanudar la división .944
Los factores difusibles pueden controlar la división celular .945
Los tejidos y órganos vegetales pueden ser cultivados .945

Descubrimiento e identificación de las citoquininas .946
La quinetina fue descubierta como un producto de la ruptura del DNA .947
La zeatina es la citoquinina natural más abundante .948
Algunos compuestos sintéticos pueden imitar o antagonizar la acción de las citoquininas .949
Las citoquininas naturales están tanto en la forma libre como en la forma conjugada .951
La citoquinina hormonalmente activa es la base libre .951
Algunas bacterias patogénicas de plantas, insectos y nemátodos secretan citoquininas libres .952

Biosíntesis, metabolismo y transporte de citoquininas .953
Las células del tumor de corona han incorporado un gen para la síntesis de la citoquinina .954
El IPT cataliza la primera etapa de la biosíntesis de citoquininas .957
Las citoquininas son transportadas desde las raíces al tallo a través del xilema .958
Una señal desde el tallo regula el transporte de ribósidos de zeatina desde la raíz .959
Las citoquininas son rápidamente metabolizadas por los tejidos vegetales .960

El papel biológico de las citoquininas .961
Las citoquininas regulan la división celular en tallos y raíces .962
Las citoquininas regulan componentes específicos del ciclo celular .964
La relación auxina/citoquinina regula la morfogénesis en cultivos de tejidos .967
Las citoquininas modifican la dominancia apical y promueven el crecimiento lateral de la yema .967
Las citoquininas inducen la formación de yemas en musgo .968
La sobreproducción de citoquininas se ha relacionado con los tumores genéticos .969

Las citoquininas retrasan la senescencia de las hojas 970
Las citoquininas promueven el movimiento de los nutrientes 972
Las citoquininas promueven el desarrollo de los cloroplastos 973
Las citoquininas promueven la expansión celular en hojas y cotiledones . . .974
Las citoquininas regulan el crecimiento de tallos y raíces 974
Los procesos regulados por citoquininas se han demostrado en plantas que producen citoquininas en exceso 976

Mecanismos celulares y moleculares de la acción de las citoquininas 977
Se ha identificado un receptor de citoquininas relacionado con los receptores bacterianos de dos componentes 977
Las citoquininas provocan un rápido aumento de la expresión de los genes reguladores de respuesta 979
Las histidina fosfotransferasas pueden mediar en la cascada de señalización de las citoquininas 982
La fosforilación inducida por citoquininas activa factores de transcripción . .983

Resumen 985

22. ETILENO: LA HORMONA GASEOSA 991

Estructura, biosíntesis y cuantificación del etileno 992
Las propiedades del etileno son extremadamente simples 992
Las bacterias, los hongos y otros órganos vegetales producen etileno 993
La biosíntesis regulada determina la actividad fisiológica del etileno 994
El estrés ambiental y las auxinas promueven la biosíntesis del etileno 996
La producción y la acción del etileno pueden ser inhibidas 998
El etileno puede medirse por cromatografía de gases 1000

Efectos del etileno sobre el desarrollo y la fisiología 1000
La maduración del fruto 1000
La epinastia de la hoja es una consecuencia del transporte de ACC desde la raíz al tallo 1003
El etileno induce la expansión celular lateral 1005
El gancho apical de las plántulas que han crecido en oscuridad se mantiene por la producción de etileno 1007
El etileno rompe la dormición de yemas y semillas en algunas especies . . .1008
El etileno promueve el crecimiento por elongación en especies acuáticas sumergidas 1008

El etileno induce la formación de raíces y pelos radiculares 1008
El etileno induce la floración en la familia de la piña 1009
El etileno aumenta la velocidad de la senescencia de la hoja 1009
El papel del etileno en las respuestas de defensa es complejo 1011
La biosíntesis de etileno en la zona de abscisión está regulada por auxinas 1011
El etileno tiene importantes usos comerciales 1014

Los mecanismos celulares y moleculares de la acción del etileno 1016
Los receptores del etileno están relacionados con el sistema bacteriano de dos componentes histidina quinasa 1016
La alta afinidad de unión del etileno a su receptor necesita cobre como cofactor 1019
Los receptores de etileno libres son reguladores negativos de la ruta de respuesta 1020
Una serina/treonina proteína quinasa también está implicada en la señalización del etileno 1021
EIN2 codifica una proteína transmembrana 1022
El etileno regula la expresión génica 1022
La epistasia génica revela el orden de los componentes de la señalización del etileno 1024

Resumen 1024

23. EL ÁCIDO ABSCÍSICO: UNA SEÑAL DE MADURACIÓN DE LA SEMILLA Y DE ANTIESTRÉS 1029

La presencia, estructura química y determinación del ABA 1030
La estructura química del ABA determina su actividad fisiológica 1030
El ABA se ensaya por métodos biológicos, físicos y químicos 1031

Biosíntesis, metabolismo y transporte de ABA 1031
El ABA se sintetiza a partir de la ruta de los carotenoides 1031
Las concentraciones de ABA en los tejidos son altamente variables 1034
El ABA puede ser inactivado por oxidación o conjugación 1034
El ABA se transporta por el tejido vascular 1035

Efectos del ABA sobre la fisiología y el desarrollo 1036
Los niveles de ABA en las semillas aumentan durante la embriogénesis ...1037
El ABA induce la tolerancia a la desecación en el embrión 1037

Durante la embriogénesis, el ABA induce la acumulación de proteínas de reserva en la semilla 1038
La dormición de la semilla puede estar impuesta por la cubierta o por el embrión 1038
Los factores ambientales controlan la liberación de la dormición de la semilla 1040
La dormición de la semilla está controlada por la relación entre ABA y GA 1041
El ABA inhibe la germinación precoz y la viviparidad 1042
El ABA se acumula en yemas latentes 1043
El ABA inhibe la producción de enzimas inducidos por GA 1044
El ABA cierra los estomas en respuesta al estrés hídrico 1044
El ABA promueve el crecimiento radical e inhibe el crecimiento del tallo cuando el potencial hídrico es bajo 1045
El ABA promueve la senescencia de la hoja independientemente del etileno 1047

Mecanismos celulares y moleculares de la acción del ABA 1047
El ABA se percibe extracelular e intracelularmente 1048
El ABA aumenta el Ca^{2+} y el pH citosólico y despolariza la membrana . . .1050
La activación de canales aniónicos lentos por ABA provoca la despolarización de la membrana 1053
El ABA estimula el metabolismo de los fosfolípidos 1054
Las proteína quinasas y proteína fosfatasas participan en la acción del ABA 1055
Las proteína fosfatasas ABI son reguladores negativos de la respuesta al ABA 1056
La señalización del ABA implica rutas independientes de Ca^{2+} 1058
La regulación de la expresión génica del ABA está mediada por factores de transcripción 1058
Se han identificado otros reguladores negativos de la respuesta al ABA . . .1060

Resumen 1061

24. EL CONTROL DE LA FLORACIÓN 1069

Meristemos florales y desarrollo de los órganos florales 1070
Las características de los meristemos apicales en *Arabidopsis* cambian durante el desarrollo 1071
Los cuatro tipos de órganos florales se inician como verticilos separados . .1072

El desarrollo floral está regulado por tres tipos de genes 1074
Los genes de identidad del meristemo regulan la función del meristemo . . .1074
Las mutaciones homeóticas permitieron la identificación de los genes de identidad del órgano floral 1075
Tres tipos de genes homeóticos controlan la identidad del órgano floral . . .1076
El modelo ABC explica la determinación de la identidad de los órganos florales 1078

La evocación floral: Control interno y externo 1080

El ápice caulinar y los cambios de fase 1081
Los meristemos apicales caulinares tienen tres fases de desarrollo 1081
Los tejidos juveniles se producen primero y están localizados en la base del brote 1082
Los cambios de fase pueden estar influidos por nutrientes, giberelinas y otras señales químicas 1085
La competencia y la determinación son dos etapas de la evocación floral 1086

Los ritmos circadianos: El reloj interior 1089
Los ritmos circadianos muestran unas propiedades características 1090
Los cambios de fase ajustan los ritmos circadianos a diferentes ciclos de día-noche 1092
Los fitocromos y los criptocromos sincronizan el reloj 1092

Fotoperiodismo: el seguimiento de la duración del día 1093
Las plantas pueden ser clasificadas por sus respuestas fotoperiódicas 1095
Las plantas detectan la duración del día midiendo la duración de la noche .1097
La interrupción nocturna puede suprimir el efecto del período oscuro 1099
El reloj circadiano está implicado en el ajuste fotoperiódico del tiempo . . .1100
El modelo de coincidencia se basa en fases de sensibilidad a la luz 1101
La hoja es el sitio de percepción del estímulo fotoperiódico 1102
El estímulo floral se transporta por el floema 1102
El fitocromo es el principal fotorreceptor en el fotoperiodismo 1103
La luz del rojo lejano modifica la floración en algunas LDPs 1105
Un fotorreceptor de luz del azul también regula la floración 1106

Vernalización: Promoción de la floración por el frío 1107
La vernalización provoca la adquisición de competencia para florecer del meristemo apical del brote 1108

La vernalización puede implicar cambios epigenéticos en la expresión génica 1110

Señalización bioquímica implicada en la floración 1111
Estudios realizados empleando injertos han demostrado la existencia de un estímulo floral transmisible 1112
La inducción indirecta implica que el estímulo floral se autopropaga 1113
En algunas LDPs se han encontrado evidencias del antiflorígeno 1114
Los intentos para aislar los reguladores florales transmisibles han sido infructuosos 1116
Las giberelinas y el etileno pueden inducir la floración en algunas plantas .1117
La transición hacia la floración implica muchos factores y rutas 1118

Resumen 1121

25. FISIOLOGÍA DEL ESTRÉS 1129

Deficiencia hídrica y resistencia a la sequía 1131
Las estrategias de resistencia a la sequía varían mucho con las condiciones climáticas o edáficas 1131
La reducción del área foliar es una respuesta inicial al déficit hídrico 1133
El déficit hídrico estimula la abscisión foliar 1134
El déficit hídrico mejora la extensión radicular hacia suelos húmedos y más profundos 1135
Los estomas se cierran durante el déficit hídrico en respuesta al ácido abscísico 1136
La deficiencia hídrica limita la fotosíntesis en el cloroplasto 1138
El ajuste osmótico de las células ayuda a mantener el equilibrio hídrico de las plantas 1140
La deficiencia hídrica aumenta la resistencia al flujo de agua en fase líquida 1143
El déficit hídrico aumenta la deposición de cera en la superficie de las hojas 1144
La deficiencia hídrica altera la disipación de la energía de las hojas 1144
El estrés osmótico induce el metabolismo ácido de Crasuláceas en algunas plantas 1146
El estrés osmótico modula la expresión génica 1147
Los genes que responden al estrés están regulados por procesos dependientes e independientes de ABA 1150

Estrés por calor y choque térmico 1152
Una temperatura elevada en la hoja y el estrés hídrico
conducen al estrés por calor 1153
A elevadas temperaturas, la fotosíntesis se inhibe antes que la respiración .1154
Las plantas adaptadas a temperaturas frías se aclimatan peor
a las altas temperaturas 1154
Las altas temperaturas reducen la estabilidad de la membrana 1155
Algunas adaptaciones protegen las hojas contra el calentamiento excesivo .1156
A altas temperaturas, las plantas producen proteínas de choque térmico . . .1157
Un factor de transcripción media la acumulación
de HSP en respuesta al choque térmico 1159
Las HSP median la termotolerancia 1160
La adaptación al estrés térmico está mediada por el calcio citosólico 1160

Enfriamiento y congelación 1162
Las propiedades de las membranas cambian en respuesta
al daño por frío 1163
La formación de cristales de hielo y la deshidratación
de los protoplastos matan las células 1165
La limitación de la formación del hielo contribuye
a la tolerancia a las heladas 1166
Algunas plantas leñosas pueden aclimatarse a temperaturas muy bajas 1167
El superenfriamiento y la lenta deshidratación están implicados
en la resistencia a temperaturas de congelación 1167
Algunas bacterias que viven en las superficies de las hojas
aumentan el daño por helada 1169
El ABA y la síntesis proteica están implicados en la aclimatación
a la congelación 1169
Durante la aclimatación al frío se inducen numerosos genes 1171
Un factor de transcripción regula la expresión génica inducida por frío 1172

Estrés por salinidad 1173
La acumulación de sal en el suelo afecta el funcionamiento
de las plantas y la estructura del suelo 1173
La salinidad reduce el crecimiento y la fotosíntesis
en las especies sensibles 1175
El daño salino implica efectos osmóticos y efectos específicos de iones . . .1175
Las plantas utilizan diferentes estrategias para evitar el daño por sal 1176
La exclusión iónica es fundamental en la aclimatación
y la adaptación al estrés salino 1177

El sodio es transportado a través de la membrana plasmática y el tonoplasto 1179

Deficiencia de oxígeno 1180

Los microorganismos anaeróbicos son activos en suelos saturados de agua 1181

Las raíces resultan dañadas en entornos anóxicos 1182

La falta del O_2 necesario en las raíces también daña los brotes 1184

Los órganos sumergidos pueden captar O_2 a través de unas estructuras especializadas 1185

La mayoría de los tejidos vegetales no pueden tolerar las condiciones anaeróbicas 1187

La aclimatación al déficit de O_2 implica la producción de proteínas de estrés anaeróbico 1188

Resumen 1189

Glosario 1197

Índice de materias 1265

UNIDAD

III

CRECIMIENTO Y DESARROLLO

Capítulo 14

Capítulo web

Contenido disponible en www.plantphys.net

EXPRESIÓN GÉNICA Y TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL

Cada célula viva contiene un conjunto de instrucciones, en forma de genes ordenados linealmente en cromosomas, para la construcción de un organismo completo. Este concepto fundamental de la biología se fue establecido por los estudios genéticos en guisantes realizados por Mendel en 1865 y culminado con el descubrimiento de la estructura del DNA por Watson y Crack en 1953. Pero la historia acaba ahí. Se abría un nuevo campo de la biología molecular centrado en la estructura, replicación y expresión de genes. Los genes codifican proteínas y la dilucidación de la compleja maquinaria implicada en la transcripción y la traducción fue uno de los triunfos del nuevo campo de la biología molecular. Más recientemente, los biólogos moleculares han conseguido comprender cómo está regulada la expresión de los genes, para poner de manifiesto que las «instrucciones genéticas» que se encuentran en los cromosomas son incompletas y requieren un conjunto completo de proteínas reguladoras del citoplasma para dirigir su actividad. En este capítulo revisaremos los conceptos básicos de la expresión génica en procariotas y eucariotas.

Mientras los biólogos moleculares fueron estudiando la función celular de los genes, los biólogos del desarrollo fueron analizando las señales que regulan el desarrollo, tanto interno como externo. Descubrieron que señales del desarrollo como la luz o las hormonas, implican receptores específicos y requieren una amplificación de la señal en forma de «segundo mensajero». En último término, estos segundos mensajeros regulan las actividades de procesos cruciales como el transporte de membrana o la expresión génica, que llevan a cabo la respuesta fisiológica o de desarrollo. Así los biólogos del desarrollo y los moleculares se acercan al mismo problema desde direcciones opuestas. La segunda parte de este capítulo proporciona una visión global de varios mecanismos de señalización que se encuentran en las células vivas. Los modelos presentados derivan principalmente de sistemas animales y microbianos, en los que se descubrieron inicialmente. Mecanismos similares en plantas serán analizados en los capítulos del texto dedicados al desarrollo, la luz y las hormonas.

TAMAÑO DEL GENOMA, ORGANIZACIÓN Y COMPLEJIDAD

La mayoría de los genomas vegetales haploides contienen de 20.000 a 30.000 genes

EXPRESIÓN GÉNICA PROCARIOTA

Las proteínas reguladoras de unión al DNA regulan la transcripción en procariotas

EXPRESIÓN GÉNICA EUCARIOTA

Los transcritos nucleares eucariotas requieren un extenso procesado
Se han identificado varios mecanismos reguladores post-transcripcionales
La transcripción en eucariotas está modulada por secuencias reguladoras que actúan en *cis*
Los factores de transcripción contienen motivos estructurales específicos
Las proteínas homeodominio son una clase especial de proteínas hélice-giro-hélice
Los genes eucariotas pueden ser regulados coordinadamente
La ruta de la ubiquitina regula el recambio proteico

TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL EN PROCARIOTAS

Las bacterias utilizan sistemas reguladores de dos componentes para detectar las señales extracelulares
La osmolaridad es detectada por un sistema de dos componentes
Se han identificado sistemas de dos componentes en eucariotas

TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL EN EUCARIOTAS

Existen dos clases de señales que definen dos tipos de receptores
La mayoría de los receptores de esteroides actúan como factores de transcripción
Los receptores de la superficie celular pueden interactuar con proteínas G
Las proteínas G heterotriméricas alternan formas activas e inactivas

La activación de la adenilato ciclasa aumenta el nivel del AMP cíclico
La activación de la fosfolipasa C inicia la ruta IP_3
El IP_3 abre canales de calcio en el RE y en el tonoplasto
El ADP ribosa cíclico media la liberación del Ca^{2+} intracelular independientemente de la señalización IP_3
Algunas proteína quinasas son activadas por complejos de calcio-calmodulina
Las plantas contienen proteína quinasas dependientes de calcio
El diacilglicerol activa la proteína quinasa C
La fosfolipasa A_2 genera otros agentes de señalización derivados de membrana
En vertebrados, una proteína G heterotrimérica activa la GMP cíclico fosfodiesterasa
El óxido nítrico gaseoso estimula la síntesis de cGMP
Los receptores de la superficie celular pueden tener actividad catalítica
La unión del ligando al receptor tirosina quinasa induce la autofosforilación
Las proteínas de señalización intracelular que se unen a RTK son activadas por fosforilación
Los Ras reclutan Raf de la membrana plasmática
La MAP quinasa activada entra en el núcleo
Los receptores vegetales del tipo quinasa son estructuralmente similares a los receptores tirosina quinasa de animales

RESUMEN

Capítulo 15

PAREDES CELULARES: ESTRUCTURA, BIOGÉNESIS Y EXPANSIÓN

LAS CÉLULAS VEGETALES, A DIFERENCIA DE LAS CÉLULAS ANIMALES, están rodeadas por una pared celular fina pero mecánicamente fuerte. Esta pared consta de una compleja mezcla de polisacáridos y otros polímeros, que son secretados por las células y ensamblados en una red organizada, mediante enlaces covalentes y no covalentes. Las paredes celulares vegetales también contienen proteínas estructurales, enzimas, polímeros fenólicos y otros materiales que modifican las características físicas y químicas de la pared.

Las paredes celulares de procariotas, hongos, algas y plantas son distintas entre sí, tanto en composición química como en estructura, pero todas tienen en común dos funciones principales: regular el volumen celular y determinar la forma celular. No obstante, como veremos más adelante, las paredes celulares vegetales han adquirido funciones adicionales que no aparecen en las paredes de otros organismos. Debido a estas funciones, la estructura y composición de las paredes celulares vegetales es compleja y variable.

Además de estas funciones biológicas, la pared celular vegetal es importante en la economía humana. Como un producto natural que es, la pared celular se usa comercialmente en forma de papel, productos textiles, fibras (algodón, lino, cáñamo y otros), carbón vegetal, madera y otros productos madereros. También se utilizan las paredes celulares en forma de extracto de polisacáridos modificados para hacer plásticos, películas, recubrimientos, adhesivos, geles y espesantes de una gran variedad de productos.

La pared vegetal también participa en los procesos de flujo de carbono a través de los ecosistemas, al ser la mayor reserva de carbono orgánico en la naturaleza. Las sustancias orgánicas que constituyen el humus del suelo, y aumentan su estructura y fertilidad, son derivados de las paredes celulares. Finalmente, la pared celular vegetal es un factor importante en la salud y la nutrición humanas, ya que es una fuente importante de fibra en nuestra dieta.

Empezaremos este capítulo con una descripción de la estructura general y composición de las paredes celulares y los mecanismos de la biosíntesis y secreción de los materiales que la componen. A continuación revisaremos la función de la pared celular primaria en la expansión celular. Se contrastará el mecanismo de crecimiento según el eje de elongación con el de crecimiento difuso, en particular respecto al establecimiento de la polaridad y el control de la expansión celular. Finalmente, describiremos los cambios dinámicos de la pared celular que suelen acompañar a la diferenciación celular, junto con el papel de los fragmentos de la pared celular como moléculas de señalización.

ESTRUCTURA Y SÍNTESIS DE LAS PAREDES CELULARES VEGETALES

Sin la pared celular, las plantas serían organismos muy diferentes de los que conocemos hoy en día. De hecho, la pared celular vegetal es esencial para muchos procesos del crecimiento vegetal, desarrollo, mantenimiento y reproducción:

- Las paredes celulares vegetales determinan el soporte mecánico de las estructuras vegetales, lo que permite a estas estructuras crecer hasta grandes alturas.
- Las paredes celulares mantienen cohesionadas unas células con otras, y evitan su deslizamiento. Esta constricción en el movimiento celular contrasta notablemente con la situación de las células animales y dicta la forma en la que las plantas se desarrollan (véase el capítulo 16).
- Una cobertura externa fuerte encierra a la célula, la pared celular actúa como un «exoesqueleto» que controla la forma celular y permite generar una presión de turgencia elevada.
- La morfogénesis vegetal depende mucho del control de las propiedades de las paredes celulares, ya que el crecimiento expansivo de las células está limitado principalmente por la capacidad de expansión de la pared celular.
- La pared celular es necesaria para las relaciones hídricas normales de las plantas, porque determina las relaciones entre la presión de turgencia y el volumen celular (véase el capítulo 3).
- El gran flujo de agua en el xilema necesita una pared mecánica fuerte que resista el colapso por la presión negativa del xilema.
- La pared celular actúa como una barrera de difusión que limita el tamaño de las macromoléculas que pueden alcanzar la membrana plasmática desde el exterior y es la principal barrera estructural para la invasión por patógenos.

Una gran parte del carbono que es asimilado por fotosíntesis se convierte en polisacáridos de la pared celular. Durante fases específicas del desarrollo, estos polímeros pueden ser hidrolizados en sus azúcares constituyentes, introducidos en las células y utilizados para hacer nuevos polímeros. Este fenómeno es más notable en muchas semillas, en las que los polisacáridos de la pared del endospermo o de los cotiledones funcionan principalmente como reservas de alimento. Además, los oligosacáridos componentes de la pared celular pueden actuar como moléculas de señalización durante la diferenciación celular y el reconocimiento de patógenos y simbiontes.

La diversidad de funciones de la pared celular vegetal necesita una estructura compleja. En esta sección empezaremos con una breve descripción de la morfología y arquitectura básica de las paredes celulares vegetales. Después analizaremos la organización, composición y síntesis de las paredes celulares primaria y secundaria.

Las paredes celulares vegetales pueden tener arquitecturas diversas

Cuando se tiñen secciones de tejidos vegetales se observa que la pared celular no es uniforme y que varía mucho en apariencia y composición según los diferentes

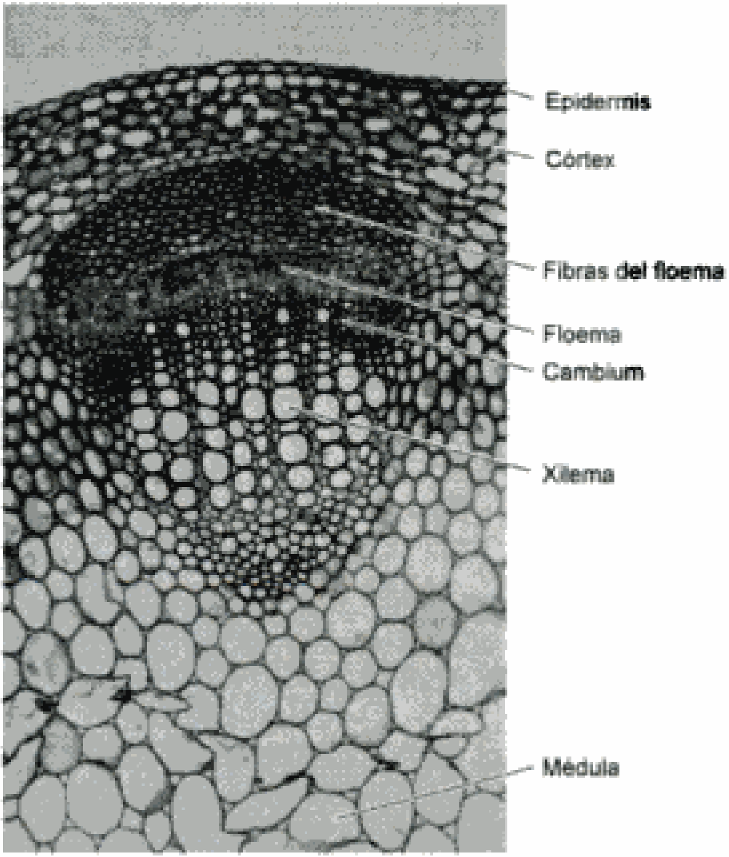


Figura 15.1 Sección transversal de un tallo de *Trifolium* (trébol), en la que se muestran células con diferentes morfologías de la pared. Obsérvense las paredes muy engrosadas de las fibras del floema. (Foto © James Solliday/Biological Photo Service.)

tipos de células (Figura 15.1). Las paredes celulares del parénquima cortical son generalmente finas y tienen pocas características distintivas. Por el contrario, las paredes celulares de células especializadas como las células epidérmicas, el colénquima, las fibras del floema, los elementos traqueales del xilema y otras formas de esclerénquima tienen gruesas paredes multicapa. Con frecuencia estas paredes presentan una construcción intrincada y están impregnadas con sustancias específicas, como lignina, cutina, suberina, ceras, sílice o proteínas estructurales.

Las paredes celulares pueden variar entre sí en grosor, sustancias embebidas, estructura y frecuencia de punteaduras y plasmodesmos. Por ejemplo, la capa externa de la epidermis suele ser mucho más gruesa que las paredes de otras células; además, esta pared carece de plasmodesmos y está impregnada con cutina y ceras. En las células guarda, el lado de la pared adyacente al poro estomático es mucho más delgado que la pared de otros lados de la célula. Tales variaciones en la estructura de una única célula reflejan la polaridad y las diferentes funciones de la célula y surgen por la secreción dirigida de componentes de la pared hacia la superficie celular.

A pesar de esta diversidad en la morfología, las paredes celulares se clasifican, habitualmente, en dos tipos: paredes primarias y paredes secundarias. Las **paredes primarias** son formadas por las células en crecimiento, y normalmente se considera que están relativamente poco especializadas y que tienen una arquitectura celular bastante similar en todas ellas. Sin embrago, la ultraestructura de la pared primaria también presenta grandes variaciones. Algunas paredes primarias, como las del parénquima del bulbo de cebolla, son muy finas (100 nm) y estructuralmente simples (Figura 15.2).

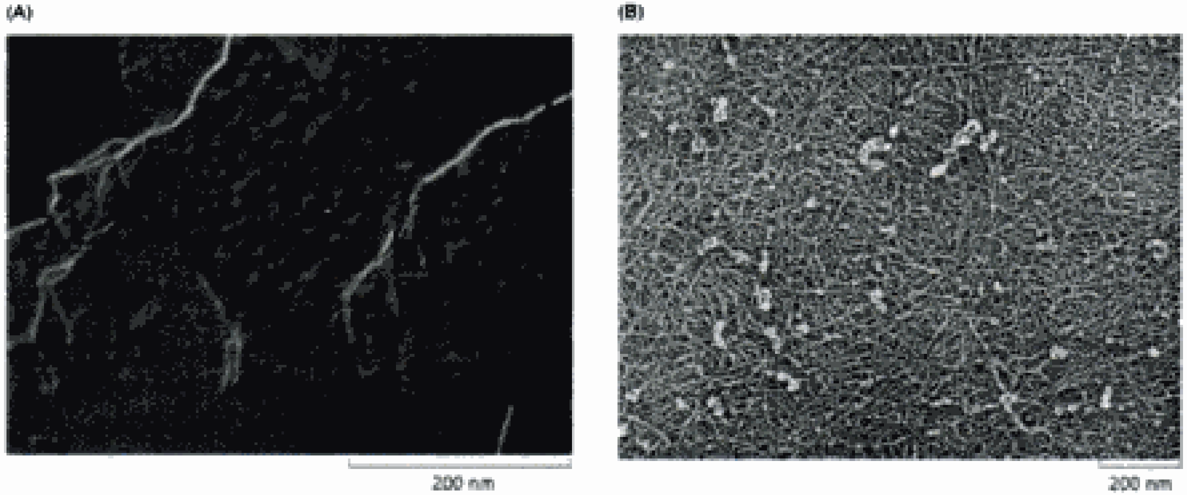


Figura 15.2 Paredes celulares primarias de parénquima de cebolla. (A) Esta vista superficial de los fragmentos de la pared se tomó utilizando óptica Nomarski. Obsérvese que la pared parece una fina hoja con pequeñas depresiones superficiales; estas depresiones pueden ser campos de agujeros, lugares donde se concentran las conexiones plasmodésmicas entre las células. (B) Esta vista superficial está preparada por la técnica de criofractura. En ella se muestra la naturaleza fibrilar de la pared celular. (De McCann y col. 1990, gentileza de M. McCann.)

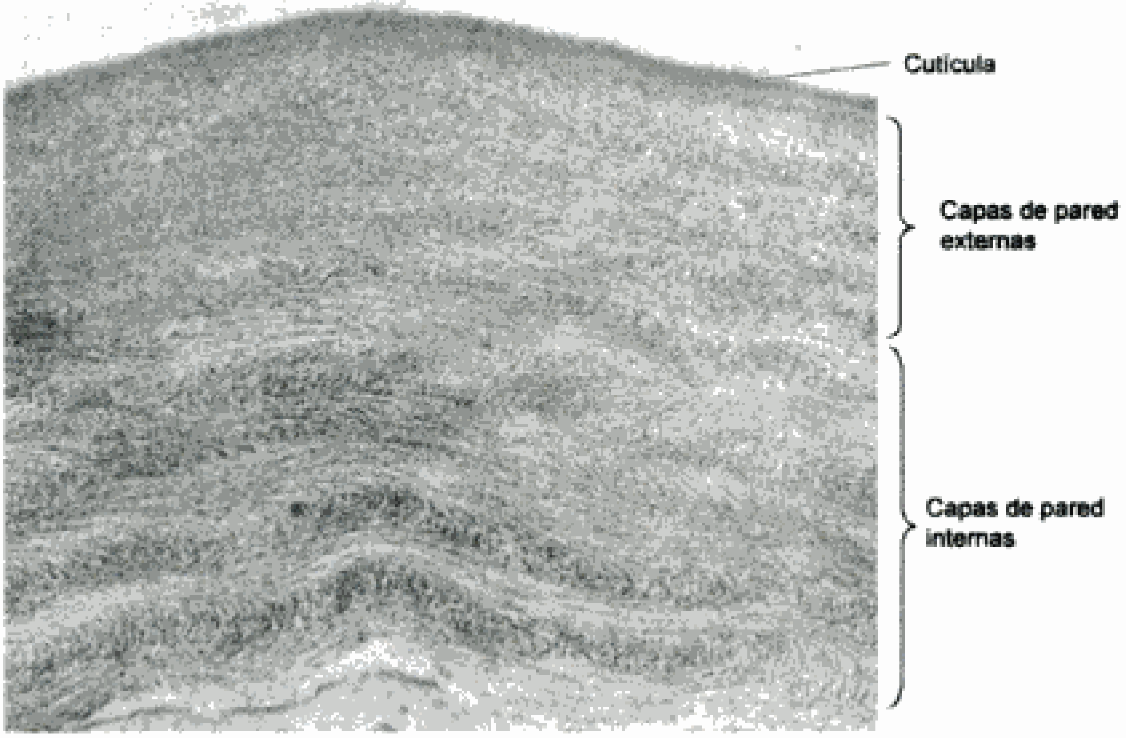


Figura 15.3 Micrografía electrónica de la pared epidérmica exterior de la región en crecimiento de un hipocótilo de judía. En la pared se aprecian múltiples capas. Las capas internas son más gruesas y más definidas que las más externas porque las capas exteriores son las regiones más viejas de la pared y han sido comprimidas y adelgazadas por la expansión celular. (Según Roland y col. 1982.)

Otras paredes primarias, como las del colénquima o la epidermis (Figura 15.3), pueden ser mucho más gruesas y constar de múltiples capas.

Las **paredes secundarias** son las paredes celulares que se forman después de que ha cesado el crecimiento celular (elongación). Las paredes celulares secundarias pueden llegar a estar altamente especializadas en estructura y composición, y reflejar los estados celulares diferenciados. Las células del xilema, como las que se encuentran en la madera, destacan por tener paredes secundarias muy gruesas que están reforzadas por **lignina** (véase el capítulo 13).

Normalmente se puede ver una fina capa de material en la unión entre las paredes de células vecinas en contacto; es la **lámina media**. La composición de la lámina media difiere del resto de la pared en que contiene mucha pectina y proteínas diferentes en comparación con el resto de la pared. Su origen puede seguirse desde la placa celular que se forma durante la división celular.

Como vimos en el capítulo 1, las paredes celulares suelen estar atravesadas por pequeños canales que surcan la membrana, llamados **plasmodesmos**, que conectan las células vecinas. La función de los plasmodesmos es la comunicación entre las células, permitiendo el transporte pasivo de pequeñas moléculas y el transporte activo de proteínas y ácidos nucleicos entre el citoplasma y las células adyacentes.

La pared primaria está formada por microfibrillas de celulosa embebidas en una matriz de polisacáridos

En las paredes celulares primarias, las microfibrillas de celulosa están embebidas en una matriz altamente hidratada (Figura 15.4). Esta estructura proporciona fuerza y flexibilidad al mismo tiempo. La **matriz** consta de dos grupos principales de polisacáridos, llamados hemicelulosas y pectinas, y una pequeña cantidad de proteínas estructurales. Los polisacáridos de la matriz consisten en una gran variedad de polímeros que varían según el tipo de célula y las especies vegetales (Tabla 15.1).

Estos polisacáridos se nombran a partir del azúcar principal que contienen. Por ejemplo, un *glucano* es un polímero de glucosa, un *xilano* es un polímero de xilosa, un *galactano* es un polímero de galactosa, etc. *Glicano* es el término general que se usa para un polímero compuesto de azúcares. En los polisacáridos ramificados, el esqueleto del polisacárido se indica en la última parte del nombre.

Por ejemplo, el *xiloglucano* tiene un esqueleto glucano (una cadena lineal de residuos de glucosa) con azúcares xilosa unidos a él en las cadenas laterales; el *glucu-*

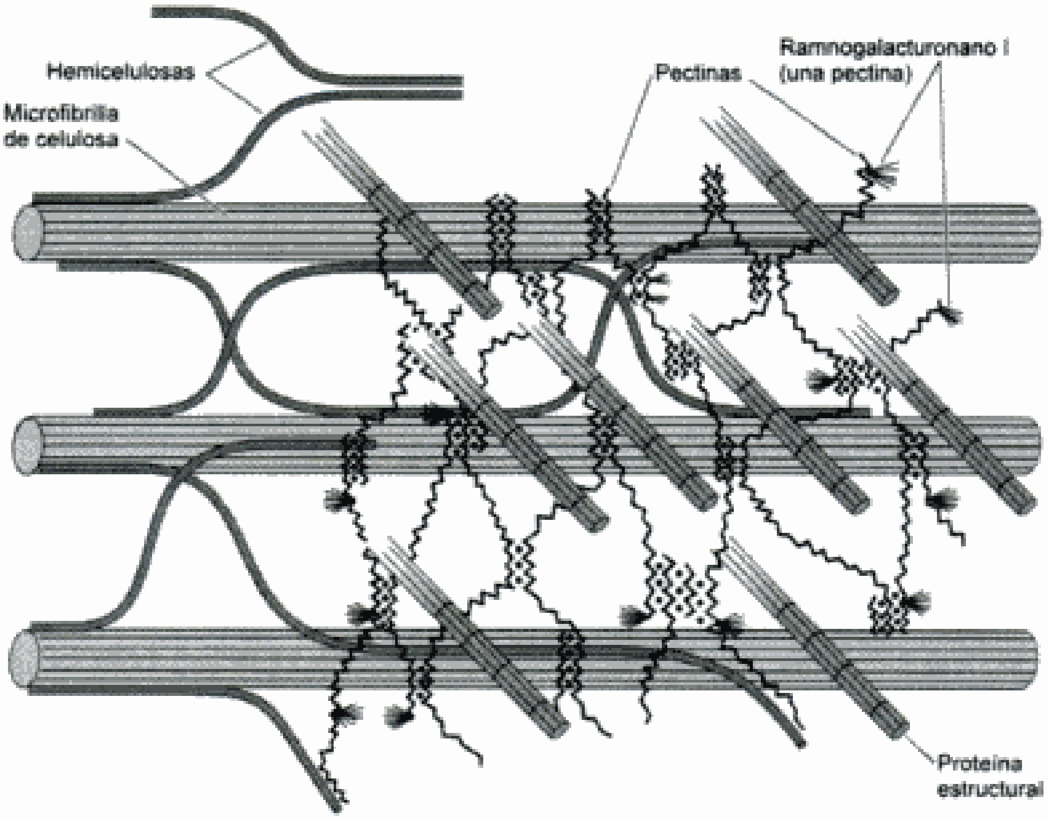


Figura 15.4 Esquema de los principales componentes estructurales de la pared celular primaria y su probable ordenamiento. Las microfibrillas de celulosa están cubiertas por hemicelulosas (como el xiloglucano), que se entrecruzan para mantener las microfibrillas unidas unas a otras. Las pectinas forman un gel que actúa como matriz de interconexión, entrando probablemente en relación con las proteínas estructurales. (Según Brett y Waldron 1996.)

TABLA 15.1
Componentes estructurales de las paredes celulares vegetales

Clase	Ejemplo
Celulosa	Microfibrillas de (1→4)β-D-glucano
Polisacáridos de matriz	
Pectinas	Homogalacturonano Ramnogalacturonano Arabinano Galactano
Hemicelulosas	Xiloglucano Xilano Glucomanano Arabinoxilano Calosa β-D(1→3)glucano β-D-(1→3,1→4)glucano [sólo en herbáceas]
Lignina	(véase el capítulo 13)
Proteínas estructurales	(véase la tabla 15.2)

ronoarabinoxilano tiene un esqueleto xilano (formado por subunidades de xilosa) con ácido glucurónico y arabinosa en las cadenas laterales. Sin embargo, el nombre de un compuesto no indica necesariamente que tenga una estructura ramificada. Por ejemplo, el *glucumanano* es el nombre que se le da a un polímero que contiene glucosa y manosa en su esqueleto.

Las **microfibrillas de celulosa** son estructuras relativamente rígidas que contribuyen a la fuerza y la disposición estructural de la pared celular. Los glucanos individuales que constituyen la microfibrilla están muy estrechamente alineados y unidos uno a otro para formar un cordón muy ordenado (**cristalino**) que excluye el agua y es relativamente inaccesible al ataque enzimático. En consecuencia, la celulosa es muy fuerte, muy estable y resistente a la degradación.

Las **hemicelulosas** son polisacáridos flexibles que se unen de forma característica a la superficie de la celulosa. Pueden formar entramados que mantienen a las microfibrillas de celulosa juntas en una red cohesiva (véase la figura 15.4), o pueden actuar como una cobertura resbaladiza para evitar el contacto directo microfibrilla-microfibrilla. Otro término utilizado para estos glucanos es el d*e glucanos entrecruzados*, pero en este capítulo utilizaremos el término más tradicional, *hemicelulosas*. Como describiremos más adelante, el término *hemicelulosa* incluye varias clases diferentes de polisacáridos.

Las **pectinas** forman una fase gelatinosa hidratada en la que la red de celulosa-hemicelulosa está embebida. Actúan como relleno hidrofílico, para evitar la agregación y el colapso de la red de celulosa. También determinan la porosidad de la pared celular a las macromoléculas. Al igual que las hemicelulosas, las pectinas incluyen varias clases diferentes de polisacáridos.

El papel preciso de las **proteínas estructurales** es incierto, pero es posible que aporten soporte mecánico y ayuden en el ensamblaje de otros componentes de la pared celular.

La pared primaria está formada por aproximadamente un 25 % de celulosa, un 25 % de hemicelulosas, un 35 % de pectinas y entre un 1 y un 8 % de proteínas estructurales, en términos de peso seco. Sin embargo, se pueden encontrar grandes desviaciones de estos valores. Por ejemplo, las paredes de los coleóptilos de gramíneas tienen entre un 60 y un 70 % de hemicelulosas, de un 20 a un 25 % de celulosa y sólo un 10 % de pectinas. Las paredes del endospermo de cereales son mayoritariamente hemicelulosas (cerca del 85 %). Las paredes secundarias suelen tener contenidos más elevados de celulosa.

En este capítulo presentaremos un modelo básico de pared primaria, pero hay que tener en cuenta que las paredes celulares vegetales son mucho más diversas de lo que el modelo sugiere. La composición de los polímeros de la matriz y de las proteínas estructurales varía significativamente entre las especies y tipos de células (Carpita y McCann 2000). La variación más notable se da en gramíneas y especies relacionadas, cuyos polisacáridos principales de la matriz difieren de aquéllos que forman la matriz de la mayoría del resto de las plantas terrestres (Carpita 1996).

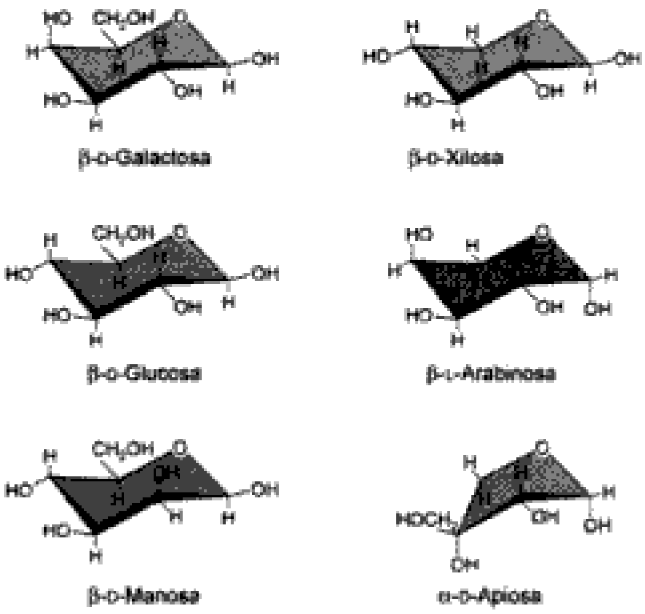
La pared primaria también contiene mucha agua, localizada principalmente en la matriz, que contiene entre un 75 y un 80 % del agua. El estado de hidratación de la matriz es un determinante importante de las propiedades físicas de la pared; por ejemplo, la eliminación del agua hace que la pared adquiera rigidez y sea menos extensible. El efecto de rigidez por deshidratación puede estar implicado en la inhibición del crecimiento cuando hay un déficit hídrico. Examinaremos con más detalle la estructura de cada uno de los principales polímeros de la pared celular en las siguientes secciones.

Las microfibrillas de celulosa se sintetizan en la membrana plasmática

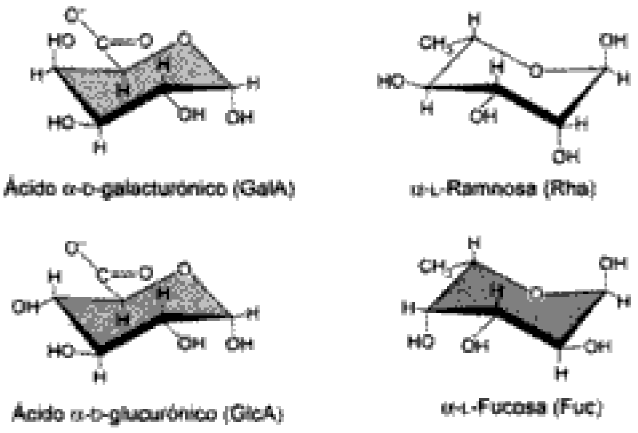
La celulosa es una microfibrilla fuertemente empaquetada de cadenas lineales de β-D-glucosa con enlaces (1→4) (Figura 15.5. y **tema web 15.1**). Debido a la configuración espacial alternante de los enlaces glucosídicos que unen residuos de glucosa adyacentes, se considera que la unidad de repetición en la celulosa es la celobiosa, un disacárido β-D-glucosa con enlaces (1→4).

Las microfibrillas de celulosa tienen una longitud indeterminada y varían mucho en anchura y grado de ordenación, según su origen. Por ejemplo, las microfibrillas de celulosa de las plantas terrestres tienen de 5 a 12 nm de ancho, mientras que las de

(A) **Hexosas** (B) **Pentosas**


β-D-Galactosa
β-D-Xilosa
β-D-Glucosa
β-L-Arabinosa
β-D-Manosa
α-D-Apiosa
HO
CH₂OH
OH
H
HOCH₂

(C) **Ácido urónicos** (D) **Deoxi azúcares**


Ácido α-D-galacturónico (GalA)
α-L-Ramnosa (Rha)
Ácido α-D-glucurónico (GlcA)
α-L-Fucosa (Fuc)
O⁻
C=O
HO
OH
H
CH₃

(E) **Celobiosa**

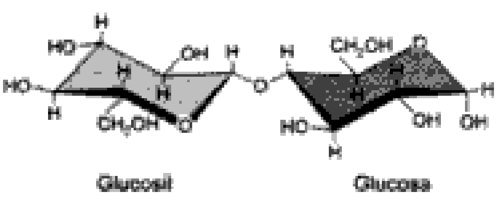

Glucosil
Glucosa
HO
OH
H
CH₂OH
O

Figura 15.5 Estructuras conformacionales de azúcares que se encuentran normalmente en las paredes celulares vegetales. (A) Hexosas (azúcares de seis carbonos). (B) Pentosas (azúcares de cinco carbonos). (C) Ácidos urónicos (azúcares ácidos). (D) Desoxiazúcares. (E) Celobiosa (mostrando las uniones β-D-(1→4) entre dos residuos de glucosa con una orientación invertida).

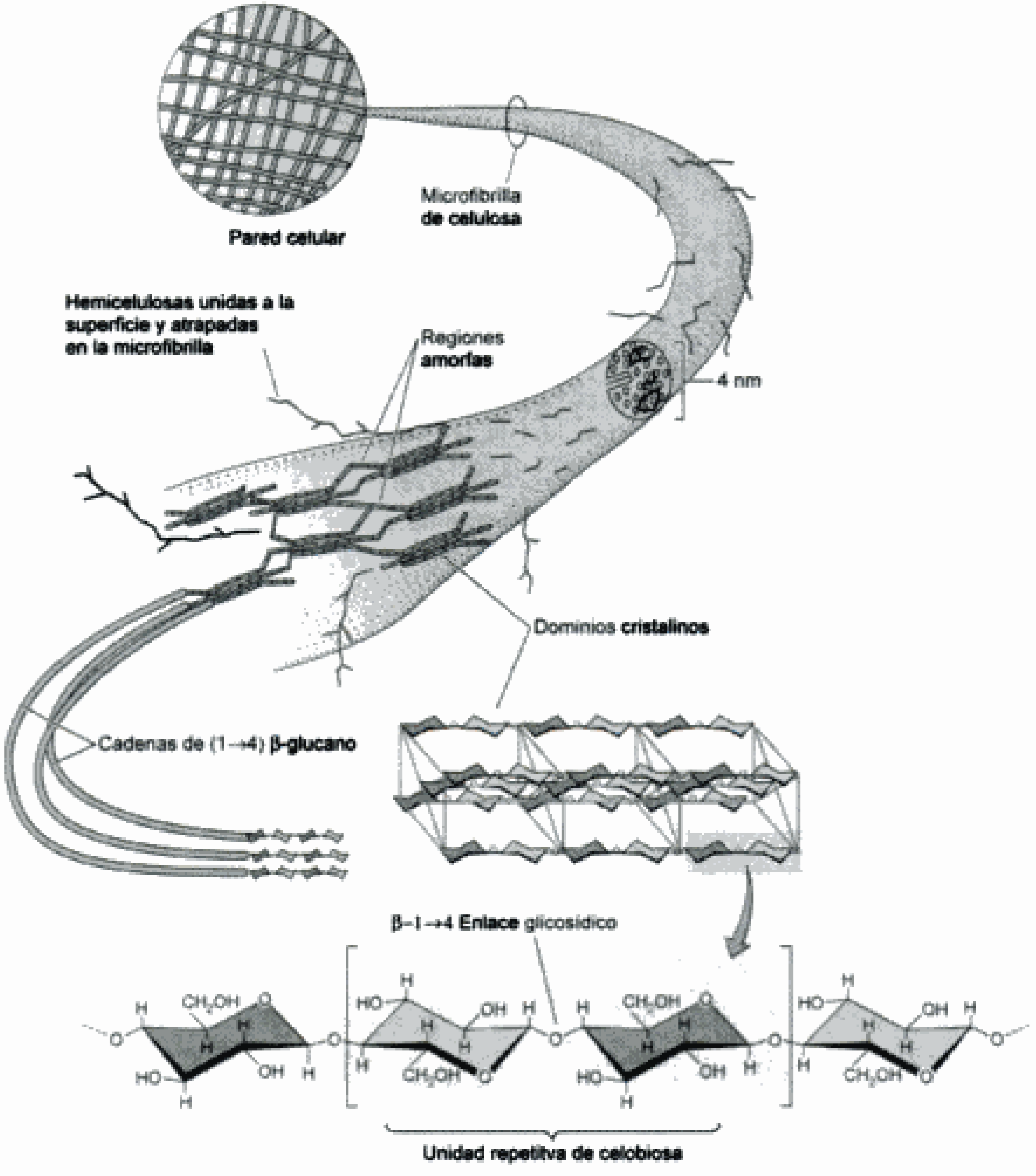

Pared celular
Microfibrilla de celulosa
Hemicelulosas unidas a la superficie y atrapadas en la microfibrilla
Regiones amorfas
4 nm
Dominios cristalinos
Cadenas de (1→4) β-glucano
β-1→4 Enlace glicosídico
H
CH₂OH
O
HO
OH
Unidad repetitiva de celobiosa

Figura 15.6 Modelo estructural de una microfibrilla de celulosa. La microfibrilla tiene regiones de alto orden cristalino entremezcladas con regiones de glucanos menos organizadas. Algunas hemicelulosas pueden ser atrapadas en la microfibrilla y unirse a la superficie.

las algas pueden tener más de 30 nm de ancho y ser mucho más cristalinas. Esta diversidad en la anchura corresponde a las diferencias en el número de cadenas paralelas que forman la sección transversal de una microfibrilla, estimado entre 20 y 40 cadenas individuales en las microfibrillas más finas.

La estructura molecular precisa de las microfibrillas de celulosa es incierta. Los modelos actuales de la organización de la microfibrilla sugieren que tiene una estructura formada por dominios altamente cristalinos unidos a regiones menos organizadas, «amorfas» (Figura 15.6). En los dominios cristalinos, los glucanos adyacentes están muy ordenados y unidos entre sí por enlaces no covalentes, como puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas.

Las cadenas individuales de glucanos de celulosa están formadas por entre 2.000 y más de 25.000 residuos de glucosa (Brown y col. 1996). Estas cadenas son suficientemente largas (de 1 a 5 µm de longitud) como para extenderse a través de las múltiples regiones cristalinas y amorfas de una microfibrilla. Cuando la celulosa es degradada (por ejemplo, por el ataque de celulasas fúngicas), primero se degradan las regiones amorfas, lo que provoca la liberación de pequeños dominios cristalinos de la microfibrilla.

La extensa unión no covalente entre glucanos adyacentes en una microfibrilla de celulosa le dan a esta estructura propiedades características. La celulosa tiene una fuerza de tensión alta, equivalente a la del acero. La celulosa también es insoluble, químicamente inestable y relativamente inmune al ataque químico y enzimático. Estas propiedades hacen de la celulosa un excelente material estructural para la construcción de una pared celular fuerte.

La microscopía electrónica ha aportado evidencias que indican que las microfibrillas de celulosa son sintetizadas por grandes complejos proteicos llamados **partículas rosetas** o **complejos terminales**, que están embebidos en la membrana plasmática (Figura 15.7) (Kimura y col. 1999). Estas estructuras contienen muchas unidades de **celulosa sintasa**, el enzima que sintetiza los (1→4)β-D-glucanos individuales que forman la microfibrilla (véase el **tema web 15.2**).

La celulosa sintasa, que está localizada en el lado citoplasmático de la membrana plasmática, transfiere un residuo glucosa de un nucleótido dador de azúcar a la cadena creciente de glucano. Los glucósidos esteroles (esteroles unidos a una cadena de dos o tres residuos de glucosa) que actúan como aceptores iniciales o «primers», comienzan la síntesis de la cadena de glucano (Peng y col. 2002). El esterol es unido al glucano por una endoglucanasa y la cadena de glucano creciente es entonces empujada fuera de la membrana hacia el exterior de la célula, donde, junto con otras cadenas de glucanos, cristaliza en una microfibrilla e interacciona con xiloglucanos y otros polisacáridos de la matriz.

El nucleótido dador del azúcar es probablemente la uridinadifosfato-D-glucosa (UDP-glucosa). Estudios recientes sugieren que la glucosa utilizada para la síntesis de celulosa se puede obtener de la sacarosa (un disacárido compuesto por una fructosa y una glucosa) (Amor y col. 1995; Salnikov y col. 2001). De acuerdo con esta hipótesis, el enzima **sacarosa sintasa** actúa como un canal metabólico para transferir la glucosa procedente de la sacarosa, a través de la UDP-glucosa, a la cadena de celulosa en crecimiento (Figura 15.8).

Después de muchos años de investigaciones infructuosas, se han conseguido aislar los genes de la celulosa sintasa en plantas superiores (Pear y col. 1996; Arioli y

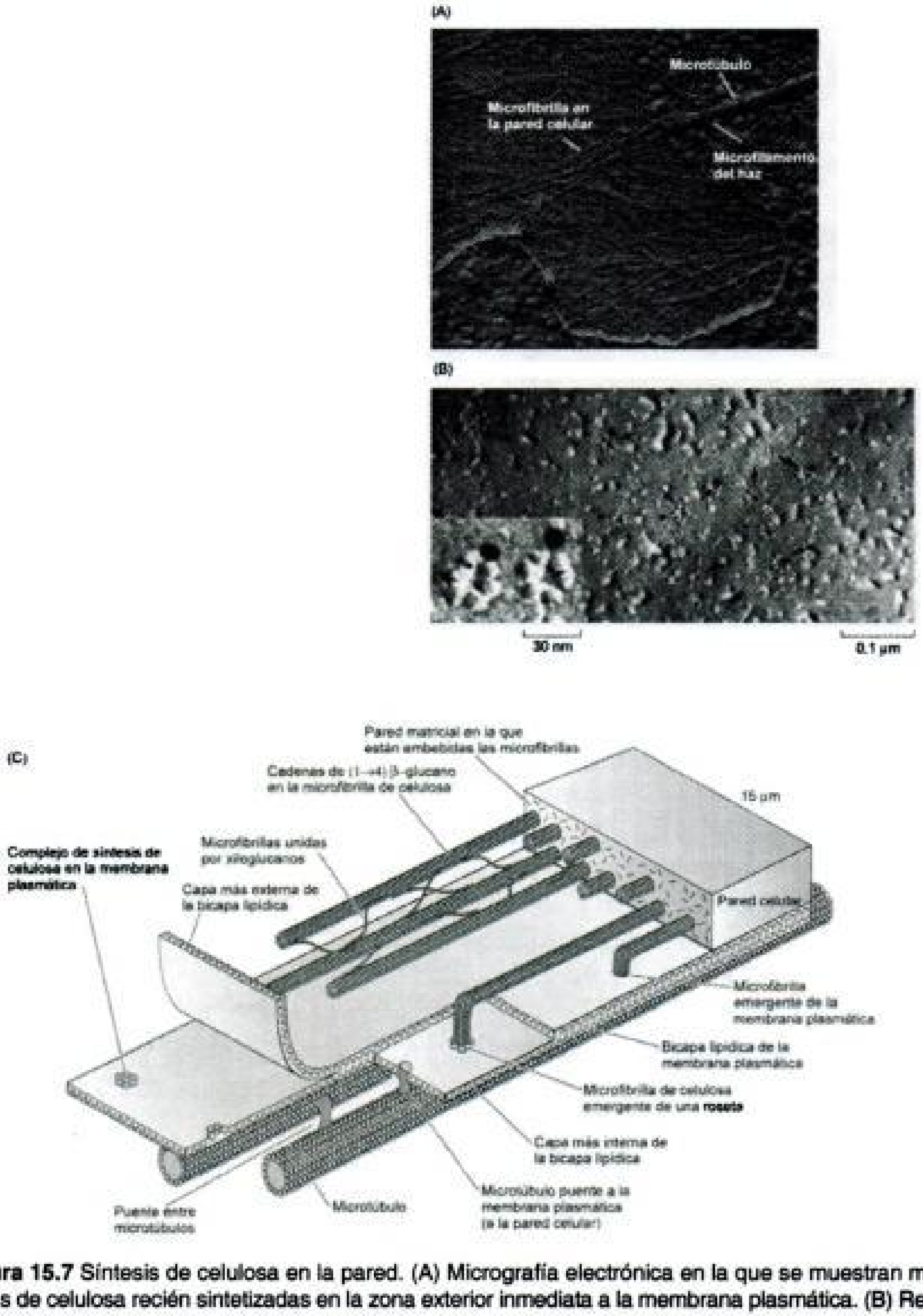

(A)
Microtúbulo
Microfibrilla en la pared celular
Microfilamento del haz
(B)
30 nm
0.1 µm
(C)
Pared matricial en la que están embebidas las microfibrillas
Cadenas de (1→4) β-glucano en la microfibrilla de celulosa
15 µm
Complejo de síntesis de celulosa en la membrana plasmática
Microfibrillas unidas por xiloglucanos
Capa más externa de la bicapa lipídica
Pared celular
Microfibrilla emergente de la membrana plasmática
Bicapa lipídica de la membrana plasmática
Microfibrilla de celulosa emergente de una **roseta**
Capa más interna de la bicapa lipídica
Microtúbulo puente a la membrana plasmática (a la pared celular)
Microtúbulo
Puente entre microtúbulos

Figura 15.7 Síntesis de celulosa en la pared. (A) Micrografía electrónica en la que se muestran microfibrillas de celulosa recién sintetizadas en la zona exterior inmediata a la membrana plasmática. (B) Replicas obtenidas por criofractura donde se muestran las reacciones con anticuerpos contra la celulosa sintasa. Un campo de rosetas marcadas (flechas) con siete rosetas claramente marcadas y una no marcada. La ampliación muestra una vista aumentada de dos rosetas (complejos terminales) seleccionadas con marcaje de inmunooro. (C) Esquema que muestra la síntesis de la celulosa por el complejo sintasa de la membrana («roseta») y la presunta guía por los microtúbulos en el citoplasma. (A y C de Gunning y Steer 1996. B de Kimura y col. 1999.)

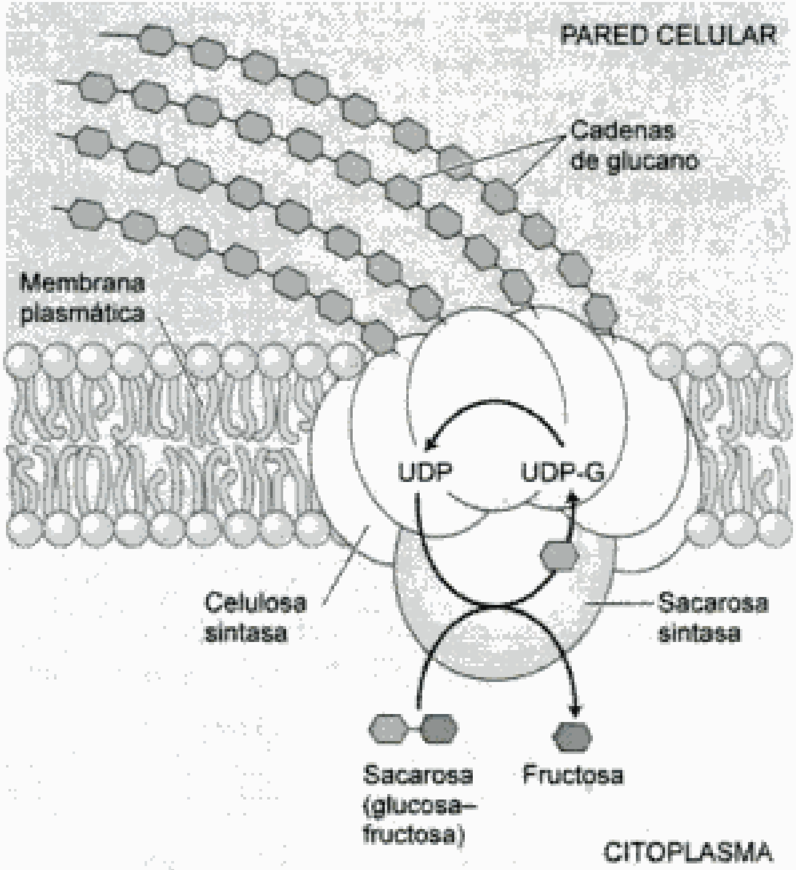


Figura 15.8 Modelo de la síntesis de celulosa por un complejo que contiene celulosa sintasa. Los residuos de glucosa son aportados a las cadenas de glucano en crecimiento por la UDP-glucosa (UDP-G). La sacarosa sintasa puede actuar como canal metabólico transfiriendo la glucosa procedente de la sacarosa a la UDP-glucosa, o la UDP-glucosa puede obtenerla directamente del citoplasma. (Según Delmer y Amor 1995.)

col. 1998; Holland y col. 2000; Richmond y Somerville 2000). En *Arabidopsis*, las celulosa sintasas forman parte de una gran familia de proteínas cuya función puede ser la de sintetizar los esqueletos de muchos polisacáridos de la pared celular.

La formación de la celulosa implica no sólo la síntesis de glucano, sino también la cristalización de múltiples cadenas de glucosa en una microfibrilla. De este proceso se conoce poco, excepto que la dirección de la formación de la microfibrilla puede estar guiada por los microtúbulos adyacentes a la membrana.

Cuando se sintetiza la microfibrilla de celulosa, se deposita en un medio (la pared) que contiene una alta concentración de otros polisacáridos que son capaces de interaccionar y quizás modificar la microfibrilla en crecimiento. Los estudios de unión *in vitro* han mostrado que las hemicelulosas como el xiloglucano y el xilano pueden unirse a la superficie de celulosa. Algunas hemicelulosas también pueden quedar físicamente atrapadas en la microfibrilla durante su formación, reduciendo así la ordenación cristalina y el orden de la microfibrilla (Hayashi 1989).

Los polímeros de la matriz se sintetizan en el aparato de Golgi y son secretados en vesículas

La matriz es una fase muy hidratada en la que se encuentran embebidas las microfibrillas de celulosa. Los principales polisacáridos de la pared se sintetizan en el aparato de Golgi por enzimas de membrana y son enviados a la pared celular por exocitosis de pequeñas vesículas (Figura 15.9 y **tema web 15.3**). Los enzimas responsables de la síntesis son *azúcar-nucleótido-polisacárido-glicosiltransferasas*. Estos enzimas transfieren monosacáridos de nucleótidos dadores de azúcar al extremo en crecimiento de la cadena del polisacárido.

A diferencia de la celulosa, que forma una microfibrilla cristalina, los polisacáridos de la matriz están mucho menos ordenados y con frecuencia se los describe como amorfos. El carácter no cristalino es consecuencia de la estructura de estos polisacáridos, sus ramificaciones y su conformación no lineal. Sin embargo, los estudios espectroscópicos indican que hay un orden parcial en la orientación de las hemicelulosas y las pectinas en la pared, probablemente como resultado de una tendencia física de estos polímeros a alinearse a lo largo del eje de la celulosa (Séné y col. 1994; Wilson y col. 2000).

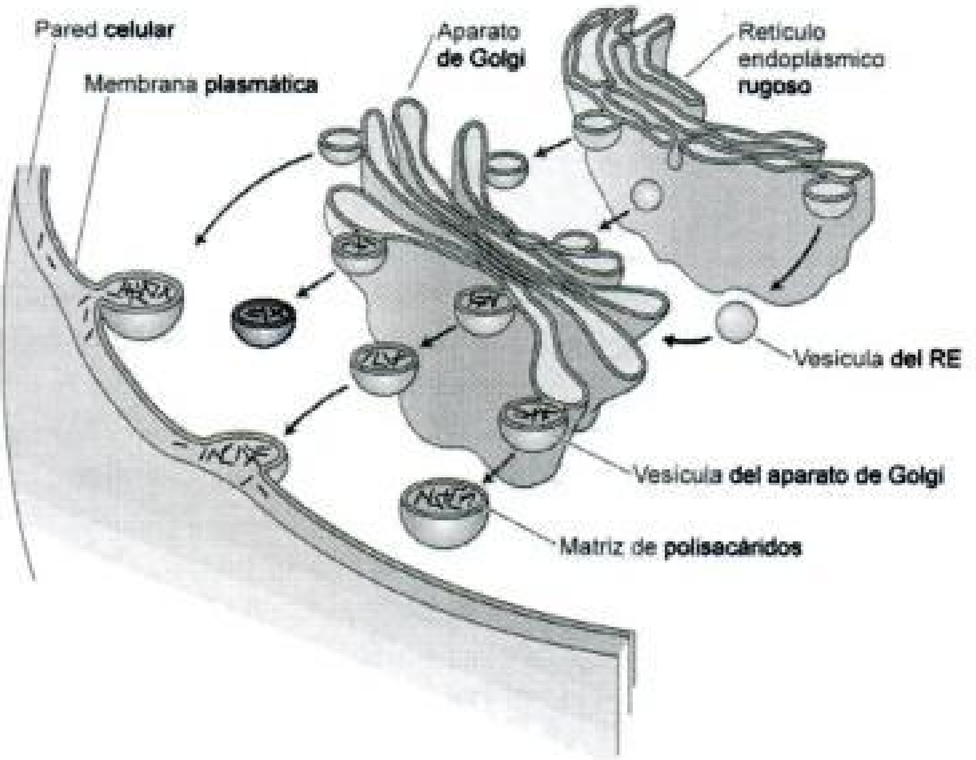
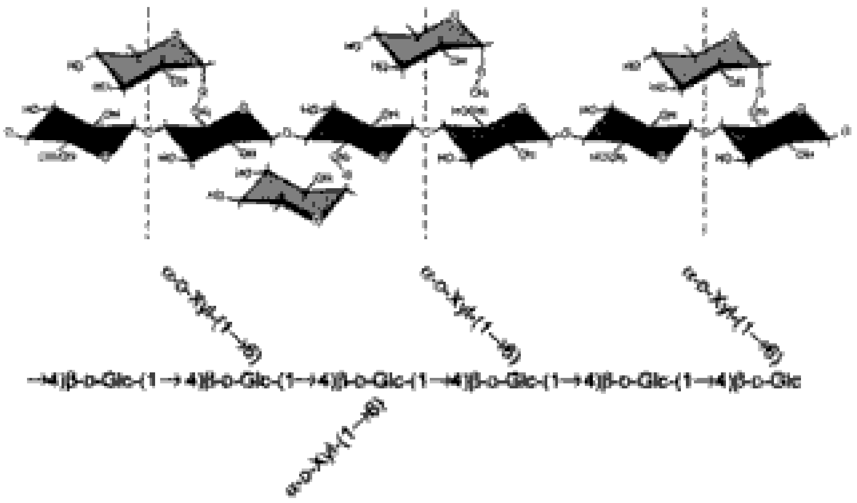


Figura 15.9 Esquema de la síntesis y envío de los polisacáridos de la matriz a la pared celular. Los polisacáridos son sintetizados por los enzimas del aparato de Golgi y entonces secretados a la pared por la fusión de vesículas membranosas a la membrana plasmática.

Las hemicelulosas son polisacáridos de la matriz que se unen a la celulosa

Las hemicelulosas son un grupo heterogéneo de polisacáridos (Figura 15.10) que se unen estrechamente a la pared. Estos polisacáridos se obtienen normalmente de las paredes sin pectinas al utilizar una base fuerte (NaOH 1-4 M). En las paredes celulares vegetales se encuentran varias clases de hemicelulosas, y diferentes tejidos y especies difieren en la composición de sus hemicelulosas.


(A) Xiloglucano
α-D-Xyl-(1→6)
α-D-Xyl-(1→6)
α-D-Xyl-(1→6)
→4)β-D-Glc-(1→4)β-D-Glc-(1→4)β-D-Glc-(1→4)β-D-Glc-(1→4)β-D-Glc-(1→4)β-D-Glc
α-D-Xyl-(1→6)

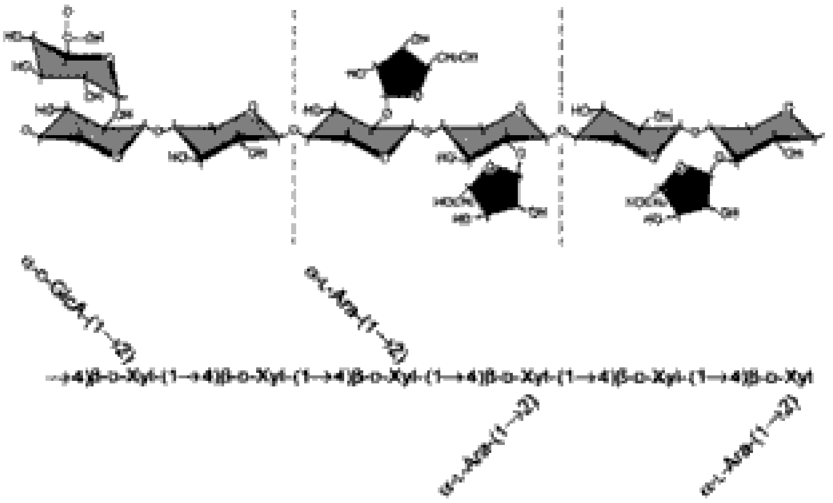

(B) Glucuronoarabinoxilano
α-D-GlcA-(1→2)
α-L-Ara-(1→2)
→4)β-D-Xyl-(1→4)β-D-Xyl-(1→4)β-D-Xyl-(1→4)β-D-Xyl-(1→4)β-D-Xyl-(1→4)β-D-Xyl
α-L-Ara-(1→2)
α-L-Ara-(1→2)

Figura 15.10 Estructuras parciales de las hemicelulosas comunes. (Para más detalles de la nomenclatura de los carbohidratos, véase el **tema web 15.1**.) (A) Un xiloglucano tiene un esqueleto β-D-glucosa (Glc) unido mediante enlaces (1→4), con ramificaciones de β-D-xilosa unida en (1→6). En algunos casos, a las cadenas laterales de xilosa se añade galactosa (Gal) y fucosa (Fuc). (B) Los glucuronoarabinoxilanos tienen un esqueleto de residuos de β-D-xilosa (Xyl) con enlaces (1→4). Pueden tener también cadenas laterales que contengan arabinosa (Ara), ácido 4-*O*-metil-glucurónico (4-O-Me-α-D-GlcA) u otros azúcares. (Según Carpita y McCann 2000.)

En la pared primaria de dicotiledóneas (el ejemplo mejor estudiado), la hemicelulosa más abundante es el **xiloglucano** (véase la figura 15.10A). Como la celulosa, este polisacárido tiene un esqueleto de residuos de β-D- glucosa con enlaces (1→4). No obstante, a diferencia de la celulosa, el xiloglucano tiene cadenas laterales cortas que contienen xilosa, galactosa y con frecuencia, aunque no siempre, una fucosa terminal.

Estas cadenas laterales interfieren el alineamiento de unas cadenas de glucano con otras, y evitan el ensamblaje del xiloglucano a la microfibrilla cristalina. Como los xiloglucanos son más largos (50-500 nm) que el espacio entre las microfibrillas (20-40 nm), pueden enlazar varias microfibrillas.

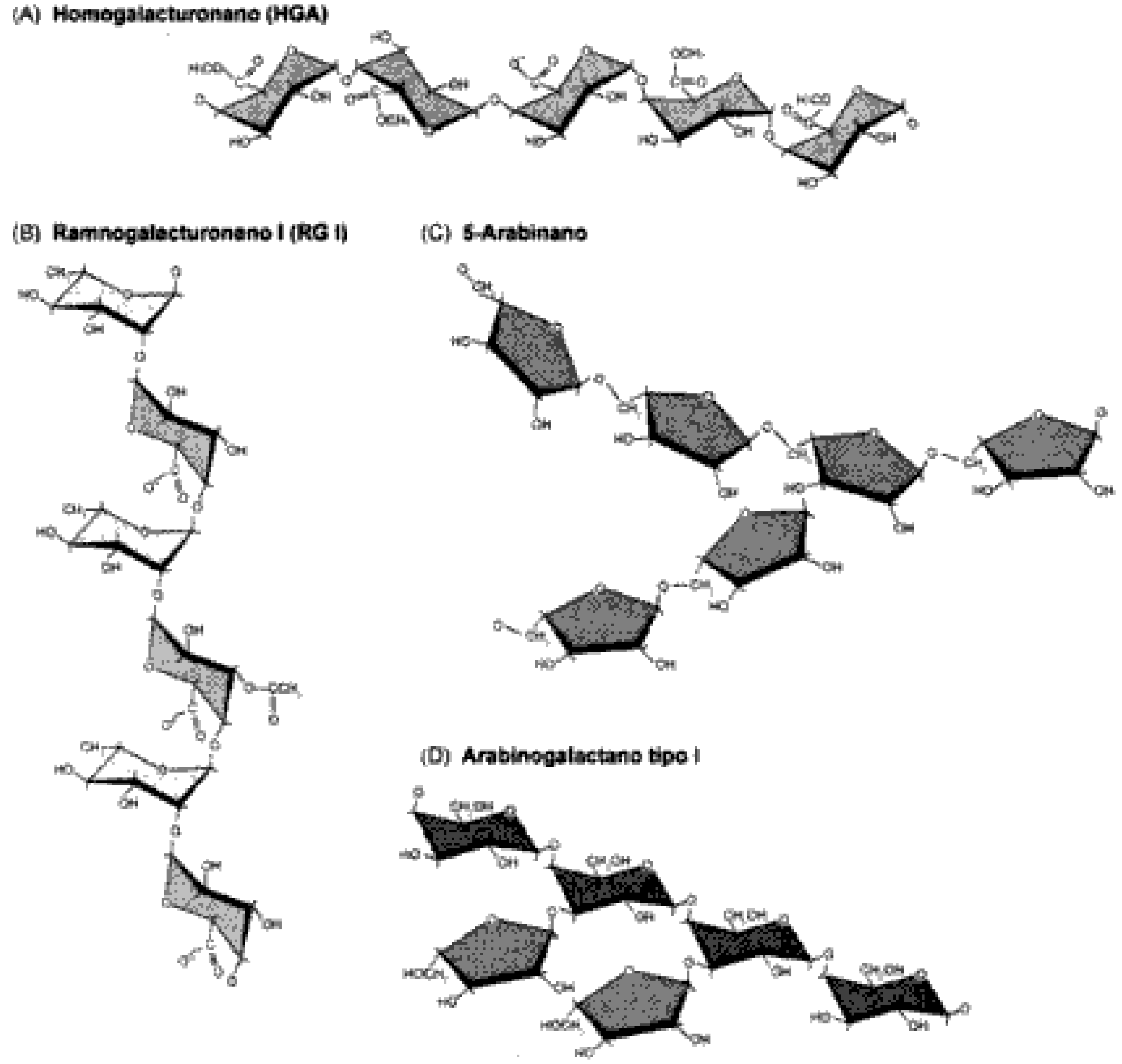
En función del estado de desarrollo y las especies vegetales, la fracción de hemicelulosas de la pared puede contener grandes cantidades de otros polisacáridos importantes, por ejemplo **glucuronoarabinoxilanos** (véase la figura 15.10B) y **glucomananos**. Las paredes secundarias típicas contienen menos xiloglucanos y más xilanos y glucomananos, que también se unen fuertemente a la celulosa. Las paredes celulares de las gramíneas contienen sólo pequeñas cantidades de xiloglucano y pectina, que son reemplazados por glucuronoarabinoxilano y (1→3,1→4) β-D-glucano.

Las pectinas son componentes formadores del gel de la matriz

Como las hemicelulosas, las pectinas constituyen un grupo de polisacáridos heterogéneo (Figura 15.11), y se caracterizan por tener azúcares ácidos como el ácido galacturónico y azúcares neutros como la ramnosa, la galactosa y la arabinosa. Las pectinas son los componentes más solubles de los polisacáridos de la pared y pueden ser extraídos con agua caliente o con quelatos de calcio. En la pared, las pectinas son moléculas grandes y complejas compuestas por diferentes clases de polisacáridos pécticos.

Algunos polisacáridos pécticos tienen una estructura primaria relativamente simple, como el *homogalacturonano* (véase la figura 15.11A). Este polisacárido, también llamado *ácido poligalacturónico*, es un polímero de residuos ácido-α-D-glucurónico con enlaces (1→4). La figura 15.12 muestra una sección de células parenquimáticas de tallo de tabaco marcadas por triple fluorescencia, donde se ve la distribución de la celulosa y el homogalacturonano péctico.

Una de las pectinas más abundantes es el polisacárido complejo *ramnogalacturonano I* (RG I), que tiene un largo esqueleto y una gran variedad de cadenas laterales (véase la figura 15.11B). Esta molécula es muy larga y se cree que contiene unas regiones muy ramificadas («peludas») (con cadenas laterales de arabinano y galactano) entremezcladas con regiones no ramificadas («suaves») de homogalacturonano (Figura 15.13A).



(A) Homogalacturonano (HGA)

(B) Ramnogalacturonano I (RG I)

(C) 5-Arabinano

(D) Arabinogalactano tipo I

Figura 15.11 Estructuras parciales de las principales pectinas. (A) El homogalacturonano, también conocido como ácido poligalacturónico o ácido péctico, está formado por α-D-ácido galacturónico (GalA) con enlaces (1→4) con residuos ocasionales de ramnosilo que producen un pliegue en la cadena. Los residuos carboxilo están esterificados con grupos metilo con frecuencia. (B) El ramnogalacturonano I (RG I) es una pectina larga y heterogénea, con un esqueleto alternante de α-D(1→4)-ácido galacturónico (GalA) y α-D(1→2)-ramnosa (Rha). Las cadenas laterales están ancladas a la ramnosa y están compuestas principalmente por arabinosa (C), galactanos y arabinogalactanos (D). Estas cadenas laterales pueden ser cortas o bastante largas. Los residuos de ácido galacturónico suelen estar esterificados con grupos metilo. (Según Carpita y McCann 2000.)

Los polisacáridos pécticos pueden ser muy complejos. Un ejemplo de ello es un polisacárido péctico muy ramificado llamado *ramnogalacturonano II* (RG II) (véase la figura 15.13C), que contiene al menos diez azúcares distintos que siguen un complicado patrón de uniones. Aunque RGI y RGII tienen nombres similares, *sus estructuras son muy diferentes*. Las unidades de RG II pueden estar entrecruzadas con enlaces diéster borato (Ishi y col. 1999) y son importantes para la estructura de la pared. Por ejemplo, mutantes de *Arabidopsis* que sintetizan un RG II alterado que es in-

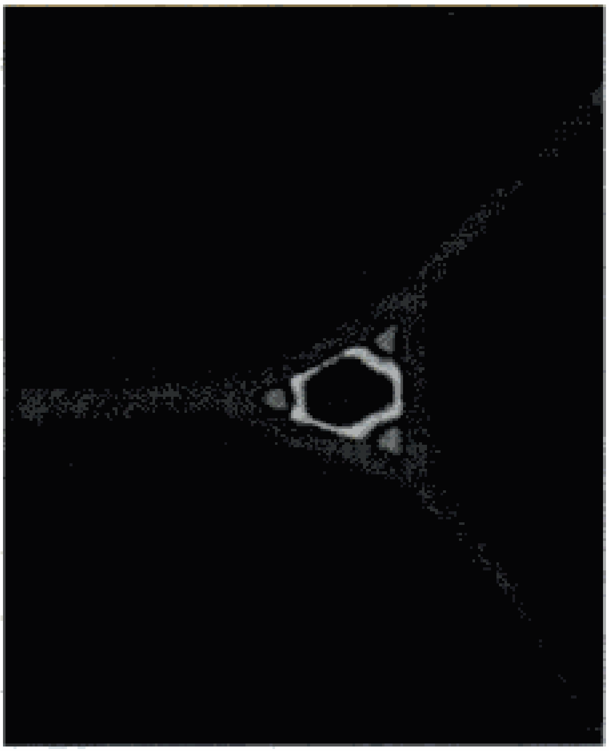


Figura 15.12 Sección de tallo de tabaco marcada por triple fluorescencia que muestra las paredes celulares primarias de las tres células adyacentes del parénquima limitando el espacio intercelular. El azul es calcofluor (que tiñe celulosa) y los colores rojo y verde indican la unión de dos anticuerpos monoclonales de diferentes epitopos (distintas regiones inmunológicas) del homogalacturonano péctico. (Gentileza de W. Willats.) (Véase la fotografía en color en el CD.)

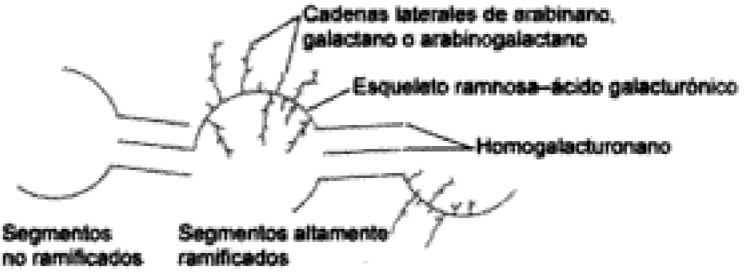
capaz de entrecruzarse con enlaces éster borato muestran anomalías importantes en el crecimiento (O'Neill y col. 2001).

Habitualmente, las pectinas forman geles, redes sueltas formadas por polímeros muy hidratados. Las pectinas son las responsables de que las mermeladas o gelatinas de frutas estén en forma de gel o solidifiquen. En los geles pécticos, los grupos carboxílicos cargados (COO^-) de cadenas de pectina vecinas están unidos a través de Ca^{2+}, que forma un complejo fuerte con la pectina. Así, se puede formar una gran red unida por calcio, como se ilustra en la figura 15.13B.

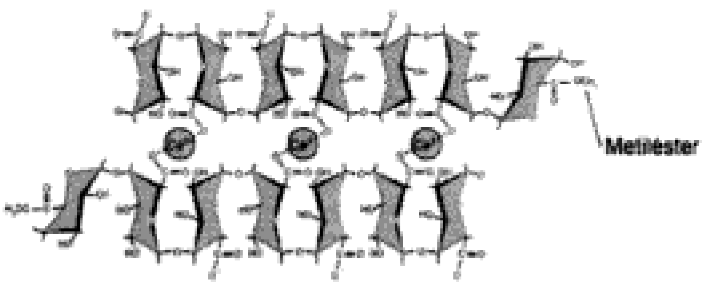
Las pectinas están sujetas a modificaciones que pueden alterar su conformación y unión en la pared. Muchos de los residuos ácidos están esterificados con grupos metilo, acetilo u otros grupos no identificados, durante su biosíntesis en el aparato de Golgi. Tal esterificación enmascara los grupos carboxilo cargados y evita las uniones entre el calcio y las pectinas, lo que reduce la capacidad de la pectina para formar geles.

Una vez que la pectina ha sido secretada a la pared, los grupos éster pueden ser eliminados por las pectina esterasas que se encuentran en la pared, lo que desenmascara los grupos carboxilo y aumenta la capacidad de la pectina para formar un gel rígido. La desesterificación también aumenta la densidad de carga eléctrica en

(A) Estructura de ramnogalacturonano I


Cadenas laterales de arabinano, galactano o arabinogalactano
Esqueleto ramnosa–ácido galacturónico
Homogalacturonano
Segmentos no ramificados
Segmentos altamente ramificados

(B) Enlace iónico de la red de pectina con calcio


Metiléster

(C) Dímero de ramnogalacturonano II (RG II) entrecruzado por puentes diéster borato

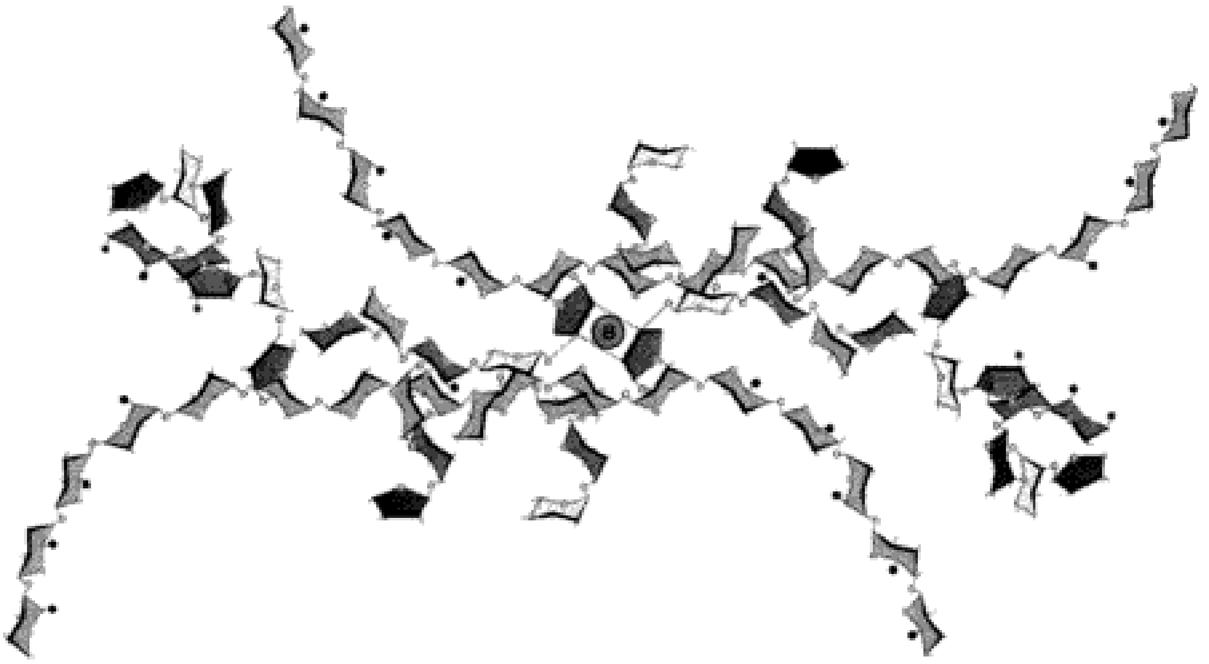


Figura 15.13 Estructura de la pectina. (A) La estructura propuesta del ramnogalacturonano I contiene segmentos muy ramificados mezclados con segmentos no ramificados y un esqueleto de ramnosa y ácido galacturónico. (B) La formación de una red de pectina implica el enlace iónico de grupos carboxílicos no esterificados (COO⁻) con iones calcio. Cuando los grupos están bloqueados por estar metilesterificados, los grupos carboxilo no pueden participar en la formación de este tipo de red entre cadenas. Además, la presencia de cadenas laterales del esqueleto interfiere en la formación de la red. (C) Estructura del ramnogalacturonano II (RG II). (B y C de Carpita y McCann 2000.)

la pared al crear grupos carboxilo libres, lo que de hecho puede influir en la concentración de los iones y las actividades enzimáticas de la pared. Además de estar unidas por calcio, las pectinas pueden unirse entre sí por varios enlaces covalentes, como los enlaces ésteres entre residuos fenólicos del ácido ferúlico (véase el capítulo 13).

Las proteínas estructurales se entrecruzan en la pared

Además de los principales polisacáridos descritos en las secciones anteriores, la pared celular contiene varias clases de proteínas estructurales. Estas proteínas normalmente se clasifican de acuerdo con su composición predominante de aminoácidos. Así, por ejemplo, encontramos la glicoproteína rica en hidroxiprolina (HRGP), la proteína rica en glicina (GRP), la proteína rica en prolina (PRP), etc. (Tabla 15.2). Algunas proteínas de la pared tienen secuencias que son características de más de una clase. Muchas proteínas estructurales de la pared tienen estructuras primarias muy repetitivas y algunas veces están altamente glicosiladas (Figura 15.14).

Los estudios de extracción *in vitro* han mostrado que las proteínas estructurales recién secretadas son relativamente solubles, pero llegan a ser más y más insolubles durante la maduración celular o en respuesta a una lesión. No obstante, la naturaleza bioquímica del proceso de insolubilización es incierta.

Las proteínas estructurales de la pared varían mucho en abundancia, en función del tipo de célula, la maduración y la estimulación previa. Las lesiones, el ataque por patógenos y el tratamiento con elicitores (moléculas que activan las respuestas de defensa de las plantas; véase el capítulo 13) aumentan la expresión de los genes que codifican muchas de estas proteínas. En los estudios histológicos, las proteínas estructurales de pared se suelen localizar en células y tejidos específicos. Por ejemplo, las HRGP están asociadas principalmente al cambium, parénquima floemático y varios tipos de esclerénquima. Las GRP y PRP se encuentran frecuentemente en los vasos del xilema y fibras y son pues características de una pared celular diferenciada.

TABLA 15.2
Proteínas estructurales de la pared celular

Clase de proteínas de la pared celular	Porcentaje de carbohidratos	Localizada típicamente en:
HRGP (glicoproteína rica en hidroxiprolina)	~55	Floema, cambium, esclereidas
PRP (proteína rica en prolina)	~0-20	Xilema, fibras, córtex
GRP (proteína rica en glicina)	0	Xilema

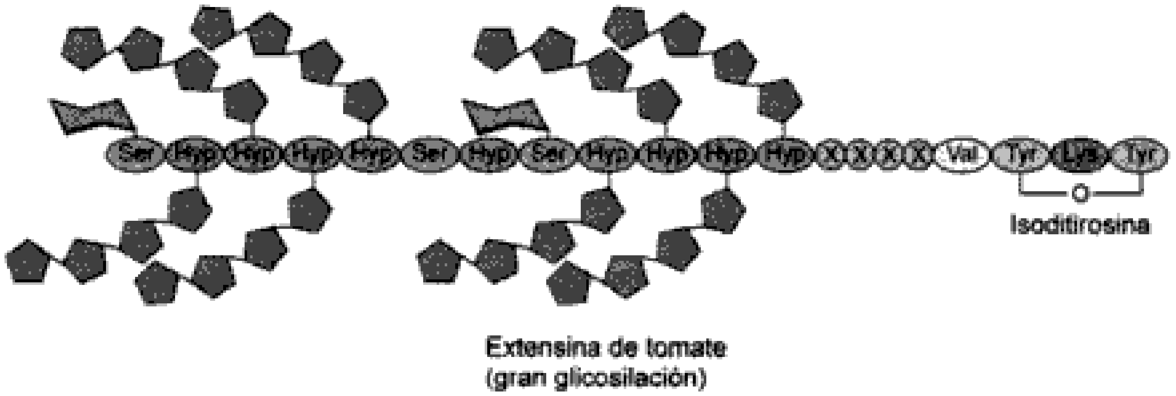

Ser
Hyp
Hyp
Hyp
Hyp
Ser
Hyp
Ser
Hyp
Hyp
Hyp
Hyp
X
X
X
X
Val
Tyr
Lys
Tyr
O
Isoditirosina
Extensina de tomate
(gran glicosilación)

Figura 15.14 Una sección repetitiva rica en hidroxiprolina de una molécula de extensina de tomate, en que se muestra la extensa glicosilación y la formación de enlaces isoditirosina intramoleculares. (De Carpita y McCann 2000.)

Además de las proteínas estructurales antes citadas, las paredes celulares contienen **proteínas de arabinogalactano (AGP)** que suelen constituir menos de un 1 % del peso seco de la pared. Estas proteínas hidrosolubles están muy glicosiladas: más del 90 % de la masa de AGP es debida a los residuos de azúcares, principalmente ga-

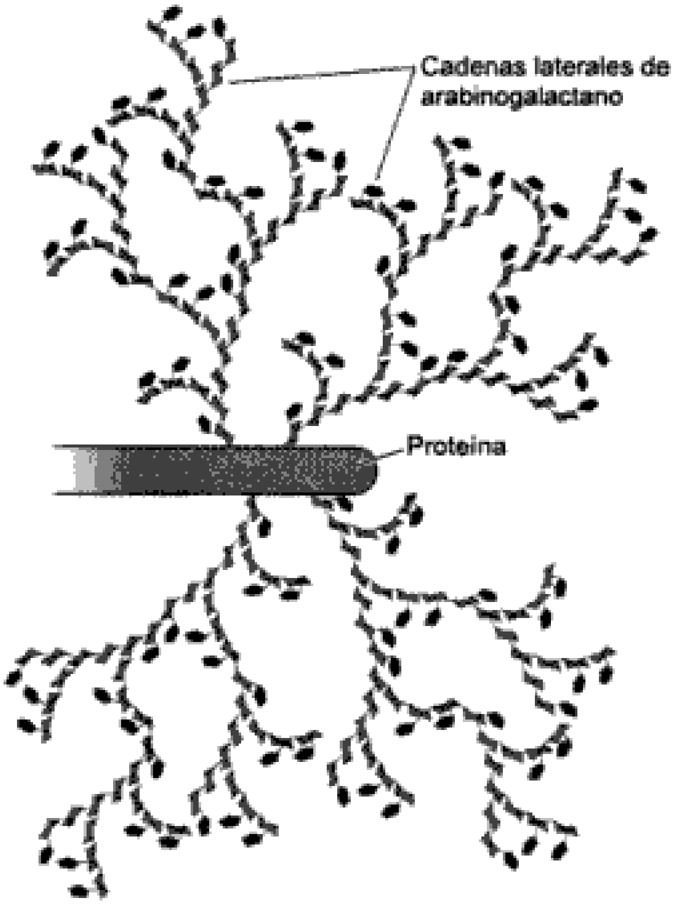

Cadenas laterales de arabinogalactano
Proteína

Figura 15.15 Molécula de arabinogalactano altamente ramificada. (Según Carpita y McCann 2000.)

lactosa y arabinosa (Figura 15.15) (Gaspar y col. 2001). En tejidos vegetales existen muchas formas de AGP, bien en la pared o asociadas con la membrana plasmática y desarrollan patrones de expresión específicos de células o tejidos.

Las AGP pueden participar en la adhesión celular y en la señalización durante la diferenciación celular. Una evidencia experimental que apoya esta última idea la encontramos en el tratamiento de suspensiones celulares con AGP exógenas o con agentes que se unen específicamente a AGP. Dichos tratamientos han influido en la proliferación celular y en la embriogénesis. Las AGP también están implicadas en el crecimiento, nutrición y guía del tubo polínico a través de los tejidos estilares, así como en otros procesos de desarrollo (Cheung y col. 1996; Gaspar y col. 2001). Por último, las AGP también parecen actuar como chaperonas de los polisacáridos en las vesículas secretoras para reducir la asociación espontánea de los polisacáridos recién sintetizados hasta que sean secretados a la pared celular.

Las nuevas paredes primarias se ensamblan durante la citocinesis

Las paredes primarias se originan *de novo* durante las etapas finales de la división celular, cuando la **placa celular** recién formada separa las dos células hijas y genera una pared estable que es capaz de resistir la carga física de la presión de turgencia.

La placa celular se forma cuando las vesículas del aparato de Golgi y las cisternas del RE se agregan en la zona media del huso de la célula en división. Esta agregación está organizada por el **fragmoplasto**, un complejo ensamblaje de microtúbulos, membranas y vesículas que se forma en la anafase tardía o en la telofase temprana (véase el capítulo 1). Las membranas de las vesículas se fusionan unas con otras y con la membrana plasmática lateral, para formar la nueva membrana plasmática que separa a las dos células hijas. Las vesículas contienen los precursores a partir de los cuales se formará la nueva lámina media y la pared primaria.

Después de que se forme la pared, ésta puede crecer y madurar a través de un proceso que se puede esquematizar de la siguiente forma:

Síntesis → secreción → ensamblaje →
expansión (en células en crecimiento) →
entrecruzamiento y formación de la pared secundaria

Como ya hemos descrito anteriormente la síntesis y la secreción de los principales polímeros de la pared, ahora consideraremos únicamente el ensamblaje y la expansión de la pared.

Después de ser secretados al espacio extracelular, los polímeros de la pared deben ensamblarse en una estructura cohesiva; es decir, los polímeros individuales deben

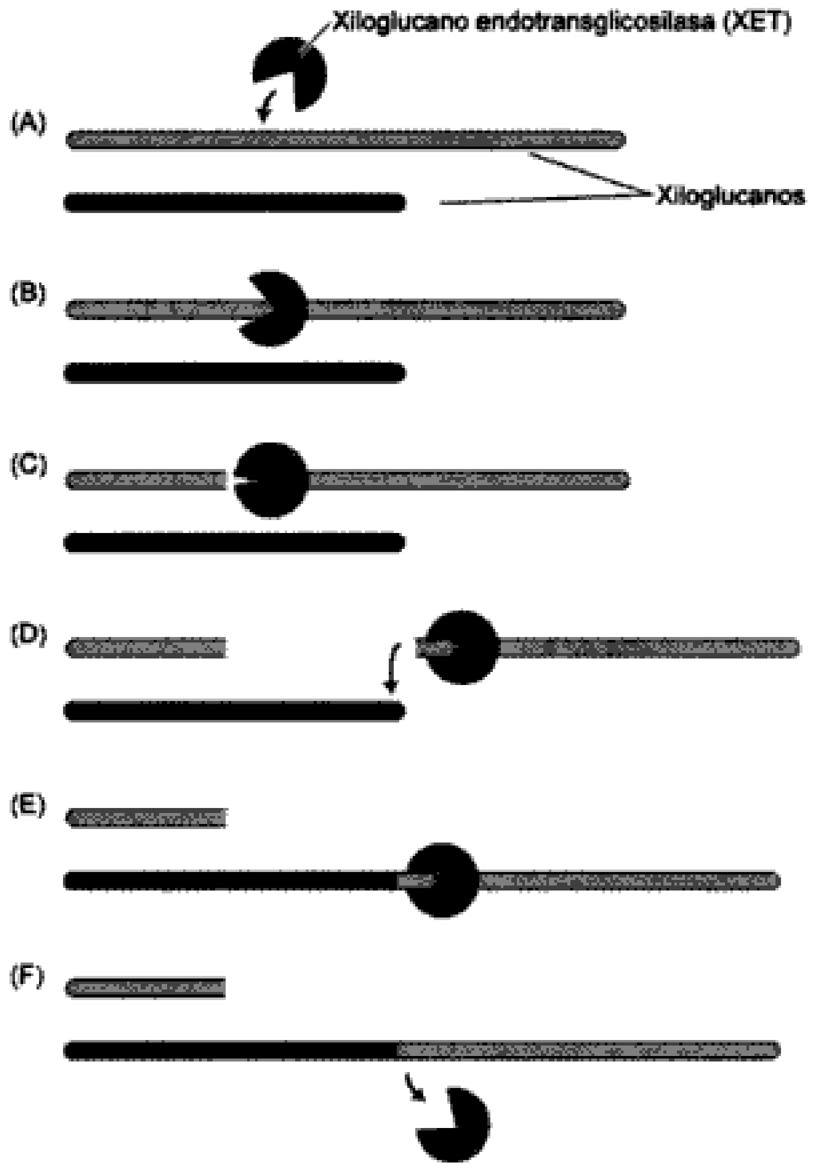


Figura 15.16 Acción de la xiloglucano endotransglicosilasa (XET) para cortar y unir polímeros de xiloglucano en nuevas configuraciones. En (A) se muestran dos cadenas de xiloglucano con dos patrones distintos para enfatizar su reordenación. El enzima XET se une a la zona media del xiloglucano (B), lo corta (C), y transfiere un extremo al extremo de un segundo xiloglucano (D, E), lo que genera un xiloglucano más corto y uno más largo (F). (Según Smith y Fry 1991.)

realizar el reordenamiento físico y los enlaces característicos de la pared. Aunque los detalles del ensamblaje no se conocen bien, los candidatos principales para este proceso son el autoensamblaje y el ensamblaje mediado por enzimas.

Autoensamblaje. El autoensamblaje es atractivo porque su mecanismo es sencillo. Los polisacáridos de la pared tienen una tendencia marcada a agregarse espontáneamente en estructuras organizadas. Por ejemplo, la celulosa aislada puede disolverse utilizando disolventes fuertes y puede extraerse para formar fibras fuertes llamadas rayón.

Del mismo modo, las hemicelulosas pueden disolverse en bases fuertes; cuando se elimina la base, estos polisacáridos se agregan en redes concéntricas ordenadas que restablecen la pared nativa a nivel de su ultraestructura. Esta tendencia a agregarse puede hacer que la separación de la hemicelulosa en los polímeros que la forman sea técnicamente difícil. Por el contrario, las pectinas son más solubles y tienen tendencia a formar redes isotrópicas dispersas (geles). Estas observaciones indican que los polímeros de la pared tienen una capacidad inherente de agregarse en estructuras parcialmente ordenadas.

Ensamblaje mediado por enzimas. Además del autoensamblaje, los enzimas de la pared pueden formar parte en la unión de la pared. Un primer enzima candidato para el ensamblaje es *xiloglucano endotransglicosilasa* (XET). Este enzima tiene la capacidad de romper el esqueleto de un xiloglucano y unir un extremo de un xiloglucano cortado con el extremo libre de otro xiloglucano aceptor (Figura 15.16). Tal reacción de transferencia integra en la pared los xiloglucanos recién sintetizados (Nishitani 1997; Thomson y Fry 2001).

Otros enzimas de la pared que podrían ayudar en el ensamblaje incluyen las glicosidasas, las pectinometil esterasas y varias oxidasas. Algunas glicosidasas eliminan las cadenas laterales de las hemicelulosas. Esta actividad «desramificadora» aumenta la tendencia de la hemicelulosa a adherirse a la superficie de las microfibrillas de celulosa. Las pectinometil esterasas hidrolizan los ésteres metílicos que bloquean los grupos carboxilo de las pectinas. Al desbloquear estos grupos carboxilo, los enzimas aumentan la concentración de grupos ácidos en las pectinas e incrementan la capacidad de las pectinas para formar una red de gel con enlaces de Ca^{2+}.

Las oxidasas, como son las peroxidasas, pueden catalizar el entrecruzamiento entre grupos fenólicos en las proteínas (tirosina, fenilalanina, ácido ferúlico), pectinas y otros polímeros de la pared. Tal acoplamiento fenólico es importante en la formación de los entrecruzamientos de lignina y puede asimismo unir diversos componentes de la pared.

Las paredes secundarias se forman en algunas células cuando cesa la expansión celular

Cuando cesa la expansión celular, algunas veces las células continúan sintetizando una pared, conocida como pared secundaria. Las paredes secundarias, con frecuencia son bastante gruesas, como en las traqueidas, fibras y otras células que participan en el soporte mecánico de la planta (Figura 15.17).

A menudo, las paredes secundarias son multicapas y tienen una estructura y composición diferente de la pared primaria. Por ejemplo, las paredes secundarias de la

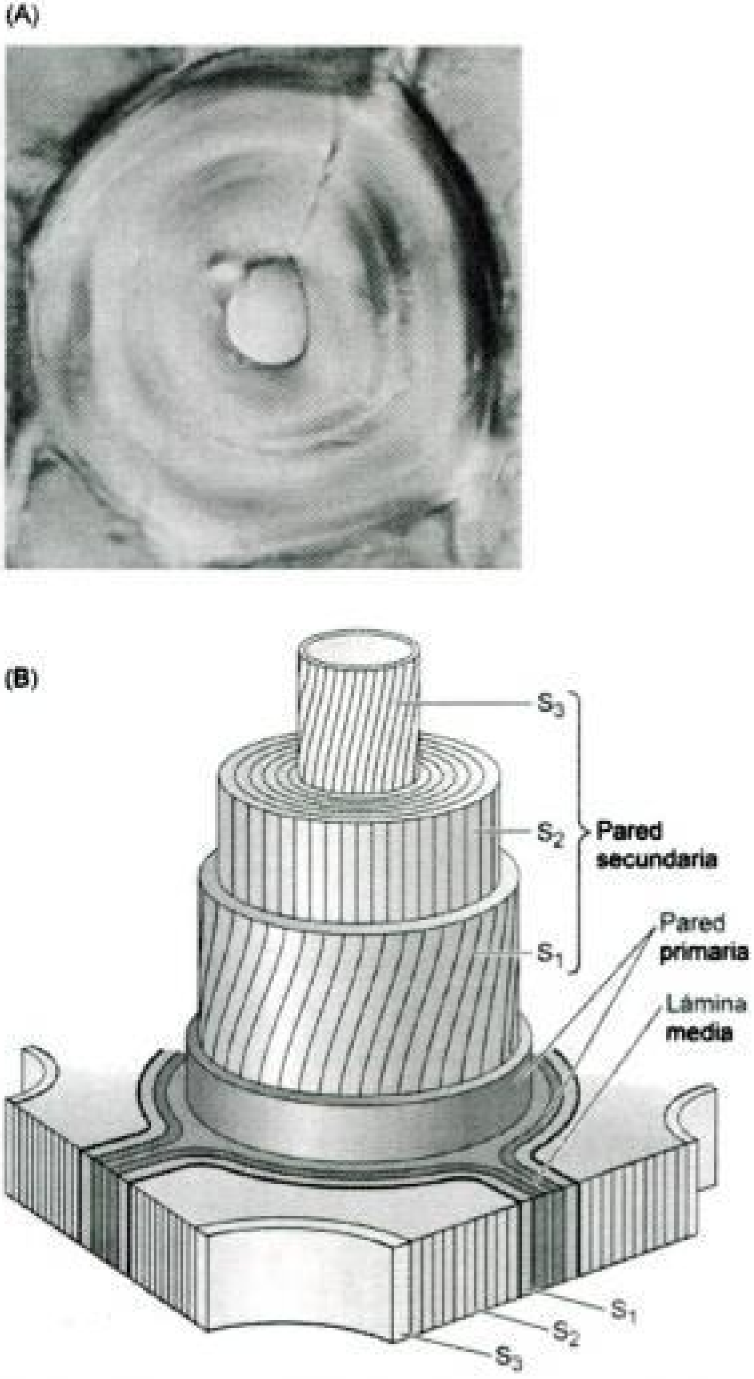


Figura 15.17 (A) Sección transversal de una esclereida de *Podocarpus* en la que son visibles las múltiples capas de la pared secundaria. (B) Diagrama de la organización de la pared celular que se suele encontrar en traqueidas y otras células con las paredes celulares engrosadas. Se forman tres capas distintas (S_1, S_2 y S_3) dentro de la pared primaria. (Foto ©David Webb.)

madera contienen xilanos en lugar de xiloglucanos, así como una mayor cantidad de celulosa. Las microfibrillas de celulosa pueden estar más orientadas de forma paralela en las paredes secundarias que en las paredes primarias. Las paredes secundarias suelen (aunque no siempre) estar impregnadas de lignina.

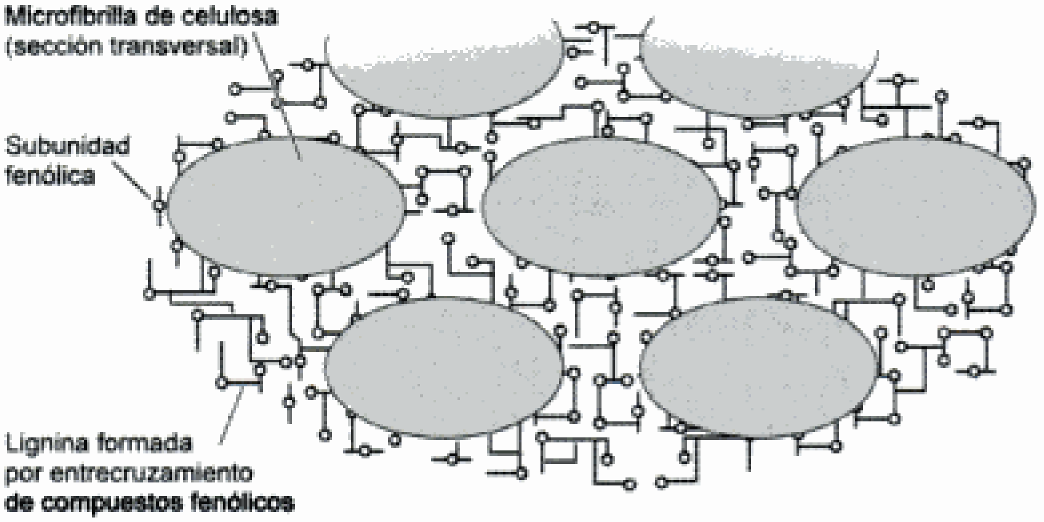

Microfibrilla de celulosa (sección transversal)
Subunidad fenólica
Lignina formada por entrecruzamiento de compuestos fenólicos

Figura 15.18 Diagrama ilustrativo de cómo las subunidades fenólicas de la lignina se infiltran entre las microfibrillas de celulosa, donde llegan a entrecruzarse. (Los otros componentes de la matriz se han omitido en este diagrama.)

La lignina es un polímero fenólico con un patrón irregular y complejo de uniones entre sus unidades de alcohol aromático (véase el capítulo 13). Estas subunidades se sintetizan a partir de la fenilalanina y son secretadas a la pared, donde son oxidadas *in situ* por los enzimas peroxidasa y lacasa. A medida que la lignina se forma en la pared, desplaza el agua de la matriz y forma una red hidrofóbica que se enlaza fuertemente a la celulosa y evita la expansión de la pared (Figura 15.18).

La lignina refuerza mecánicamente las paredes celulares y reduce la sensibilidad al ataque de patógenos. También reduce la digestibilidad del material vegetal por los animales. La ingeniería genética aplicada al estudio de la lignina puede mejorar la digestibilidad y el contenido nutricional de las plantas para que puedan ser utilizadas como alimento animal.

PATRONES DE EXPANSIÓN CELULAR

Durante el crecimiento de la célula vegetal se sintetizan y secretan continuamente nuevos polímeros de la pared al mismo tiempo que la pared preexistente se expande. La expansión de la pared puede estar muy localizada (como es el caso del **crecimiento según el eje de elongación**) o estar distribuida por toda una superficie (**crecimiento difuso**) (Figura 15.19). Mientras que el crecimiento según el eje de elongación es característico de los pelos radicales y los tubos polínicos (véase el **ensayo web 15.1**), la mayoría de las células vegetales tienen un crecimiento difuso. Las células como las fibras, algunas esclereidas y los tricomas crecen con

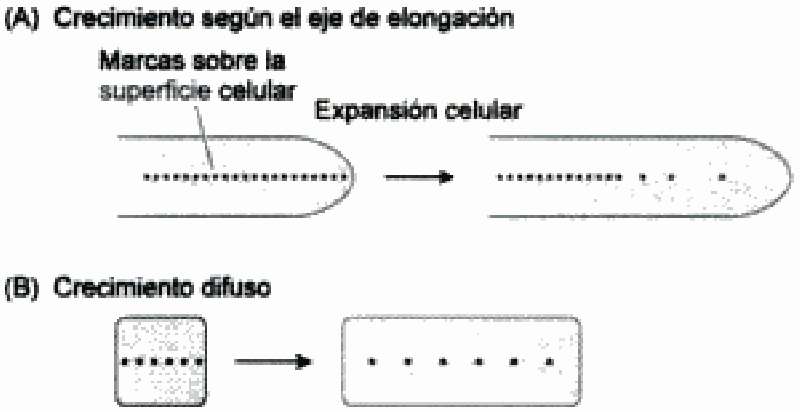

(A) Crecimiento según el eje de elongación
Marcas sobre la superficie celular
Expansión celular
(B) Crecimiento difuso

Figura 15.19 La superficie celular se expande durante el crecimiento según el eje de elongación y el crecimiento difuso. (A) La expansión de una célula creciendo según el eje de elongación está restringida a una cúpula apical en el extremo de la célula. Si se dibujan marcas en la superficie celular y se deja que la célula siga creciendo, sólo se llegan a separar las marcas que estaban inicialmente en la cúpula apical. Los pelos radicales y el tubo polínico son un ejemplo de células vegetales con crecimiento según el eje de elongación. (B) Si las marcas se colocan en la superficie de una célula con crecimiento difuso, la distancia entre todas las marcas aumenta a medida que la célula crece. La mayoría de las células en las plantas multicelulares crecen por crecimiento difuso.

un patrón intermedio entre el crecimiento difuso y el crecimiento según el eje de elongación.

No obstante, incluso en células con crecimiento difuso, las diferentes partes de la pared pueden crecer a diferentes velocidades y en diferentes direcciones. Por ejemplo, en las células corticales del tallo, los extremos de la pared crecen mucho menos que las paredes laterales. Esta diferencia puede ser debida a las variaciones estructurales o enzimáticas en paredes específicas o a variaciones en el estado de estrés de las paredes. Como consecuencia de este patrón desigual de expansión celular, las células vegetales pueden asumir formas irregulares.

La dirección de la expansión celular en las células con crecimiento difuso está determinada por la orientación de las microfibrillas de celulosa

Durante el crecimiento, la pared celular distendida se expande por la acción de las fuerzas físicas generadas por la presión de turgencia celular. La presión de turgencia crea una fuerza dirigida en todas las direcciones hacia el exterior. La direccionalidad del crecimiento está determinada, en gran medida, por la estructura de la pared y, en particular, por la orientación de las microfibrillas de celulosa.

Cuando las células se forman primero en el meristemo son isodiamétricas, es decir, tienen el mismo diámetro en todas las direcciones. Si la orientación de las microfibrillas de celulosa fuera **isotrópica** (ordenamiento al azar), la célula crecería

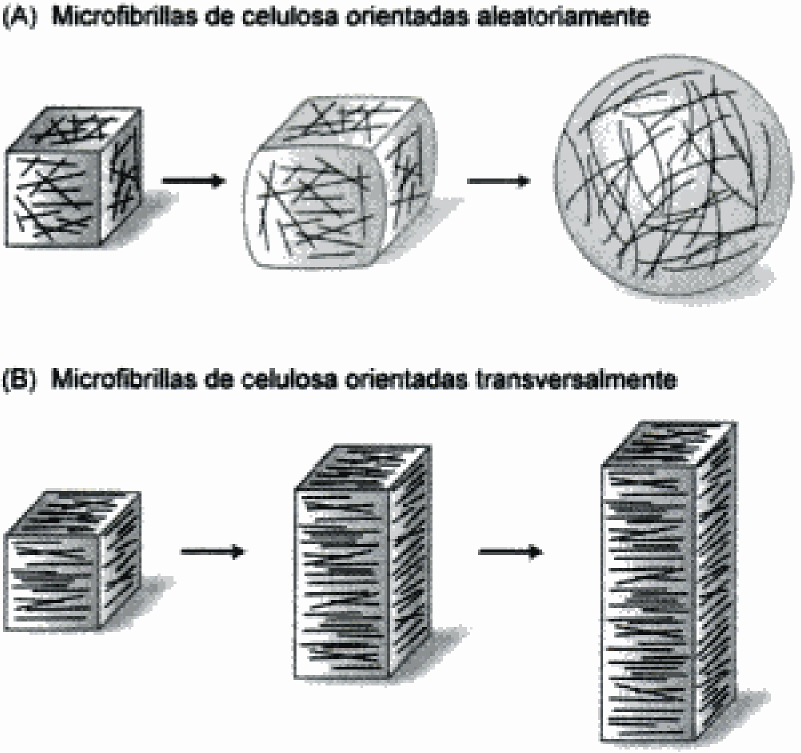

(A) Microfibrillas de celulosa orientadas aleatoriamente
(B) Microfibrillas de celulosa orientadas transversalmente

Figura 15.20 La orientación de las microfibrillas de celulosa recién depositadas determina la dirección de la expansión celular. (A) Si la pared está reforzada por microfibrillas de celulosa orientadas al azar, la célula se expande igualmente en todas las direcciones formando una esfera. (B) Cuando la mayor parte de las microfibrillas de celulosa de refuerzo tienen la misma orientación, la célula se expande en ángulo recto a la orientación de la microfibrilla y está restringida en la dirección del refuerzo. Aquí la orientación de las microfibrillas es transversal, por lo que la expansión es longitudinal.

igualmente en todas las direcciones, expandiéndose radialmente para generar una esfera (Figura 15.20A). Sin embargo, en la mayoría de las paredes celulares vegetales el ordenamiento de las microfibrillas de celulosa es **anisotrópico** (no al azar).

Las microfibrillas de celulosa se sintetizan principalmente en las paredes laterales de las células cilíndricas en elongación, como las células corticales y vasculares de tallos y raíces o las células gigantes de los entrenudos del alga verde filamentosa *Nitella*. Además, las microfibrillas de celulosa se depositan circularmente (transversalmente) en estas paredes laterales, en ángulo recto al eje longitudinal de la célula. Las microfibrillas de celulosa ordenadas circularmente están unidas como los anillos de un barril, restringiendo el crecimiento en circular y promoviendo el crecimiento en longitud (Figura 15.20B). Sin embargo, una analogía más acertada sería la de una fibra de vidrio, ya que las microfibrillas individuales de celulosa no actúan formando anillos cerrados alrededor de la célula.

La fibra de vidrio es *un material polimérico complejo* formado por una matriz de resina amorfa reforzada por elementos discontinuos, en este caso, fibras de vidrio. En polímeros complejos, los elementos cristalinos con forma de varilla ejercen su máximo refuerzo de la matriz en la dirección paralela a su orientación y el mínimo refuerzo en dirección perpendicular. El refuerzo de la pared es mucho mayor en la dirección paralela debido a que la matriz va tirando a lo largo de toda la longitud de las fibras para que se produzca el desplazamiento lateral.

Las paredes celulares vegetales, como la fibra de vidrio, son materiales poliméricos complejos, compuestos de una fase amorfa y elementos cristalinos (Darley y col. 2001). No obstante, a diferencia de la fibra de vidrio, los elementos de refuerzo de las microfibrillas de una pared primaria típica están orientados transversalmente, lo que confiere a la pared celular anisotropía estructural y mecánica. Por esta razón las células vegetales en crecimiento tienden a elongarse y su crecimiento en grosor es mínimo.

La deposición de la pared celular continua mientras las células se alargan. De acuerdo con la **hipótesis del crecimiento en multirred**, las sucesivas capas de pared se comprimen y estrechan durante la expansión celular, de manera que las microfibrillas se reorientan pasivamente en dirección longitudinal, es decir, en la dirección del crecimiento. Las sucesivas capas de microfibrillas muestran así una gradación en su orientación a lo largo de la anchura de la pared celular, con las capas más exteriores orientadas longitudinalmente como resultado de la compresión de la pared (Figura 15.21).

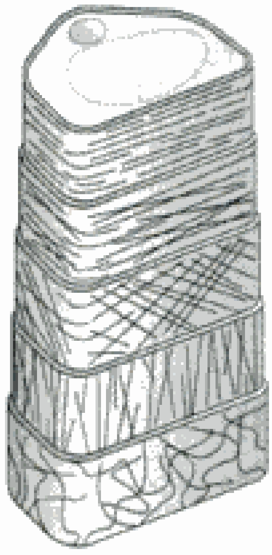


Figura 15.21 Hipótesis multirred para la expansión de la pared. Las microfibrillas de celulosa recién sintetizadas se depositan continuamente en la superficie interna de la pared en orientación transversal. A medida que se produce la elongación, las capas externas más viejas de la pared se hacen cada vez más finas y débiles y sus microfibrillas de celulosa se reordenan pasivamente según una orientación longitudinal. Las capas internas determinan las propiedades mecánicas de la pared.

Debido a su delgadez y fragmentación, estas capas más externas tienen menos influencia en la dirección de la expansión celular que las de las capas más internas recién depositadas. Una cuarta parte de la pared más interna soporta todas las tensiones debido a la presión de turgencia y determina la dirección de la expansión celular (véase el **tema web 15.4**).

Los microtúbulos corticales determinan la orientación de las microfibrillas de celulosa recién depositadas

Las microfibrillas de celulosa recién depositadas y los microtúbulos citoplásmicos de las paredes celulares normalmente se coalinean, lo que sugiere que los microtúbulos determinan la orientación de la deposición de las microfibrillas de

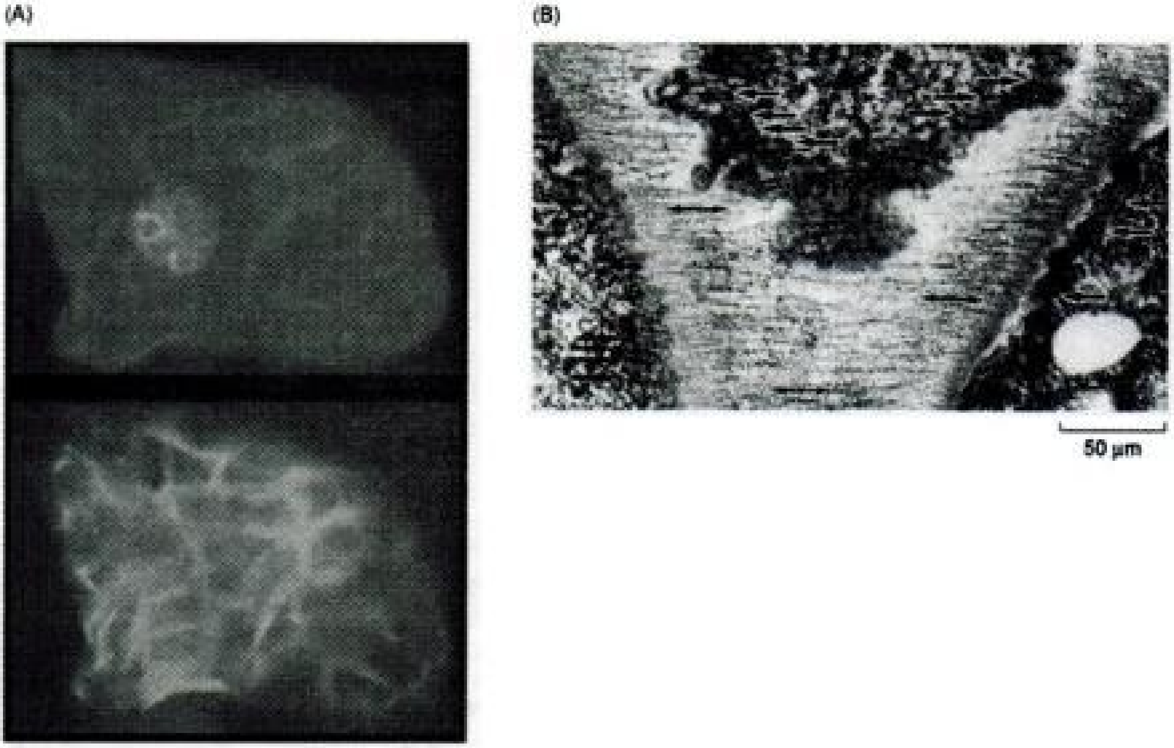


Figura 15.22 La orientación de los microtúbulos en el citoplasma cortical refleja la orientación de las microfibrillas de celulosa recién depositadas en la pared celular de las células que están elongándose. (A) La tinción de la proteína tubulina del microtúbulo con anticuerpos para la tubulina marcados con fluorescencia revela la reordenación de los microtúbulos en la célula. La imagen pertenece a elementos traqueales diferenciándose de un cultivo celular en suspensión de Zinnia, en el cual el patrón de microtúbulos (verde) refleja la orientación de las microfibrillas de celulosa en la pared, como muestra la tinción con calcofluor (azul). (B) La alineación de las microfibrillas de celulosa en la célula puede a veces verse en secciones cortadas preparadas para la microscopía electrónica, como en esta micrografía de una célula de un elemento criboso en desarrollo en una raíz de *Azolla* (un helecho de agua). El eje longitudinal de la raíz y el elemento criboso están verticales. Tanto las microfibrillas de la pared (flecha doble) como los microtúbulos corticales (flechas) están alineados transversalmente. (A gentileza de R. Seagull; B gentileza de A. Hardham.) (Véase la fotografía en color en el CD.)

celulosa. La orientación de los microtúbulos en el citoplasma cortical, el citoplasma inmediatamente adyacente a la membrana plasmática, normalmente refleja la de las microfibrillas recién depositadas en la pared celular adyacente, y ambos (los microtúbulos y las microfibrillas) se coalinean en dirección transversal, en ángulo recto al eje de la polaridad (Figura 15.22). En algunos tipos de células, como las traqueidas, las microfibrillas de la pared alternan las orientaciones transversales y longitudinales y, en tales casos, los microtúbulos se observan siempre paralelos a las microfibrillas que han sido depositadas en la capa de la pared más reciente.

La principal evidencia de la implicación de los microtúbulos en la deposición de las microfibrillas de celulosa es que la orientación de las microfibrillas puede perturbarse por mutaciones genéticas y con fármacos que alteran los microtúbulos cito-

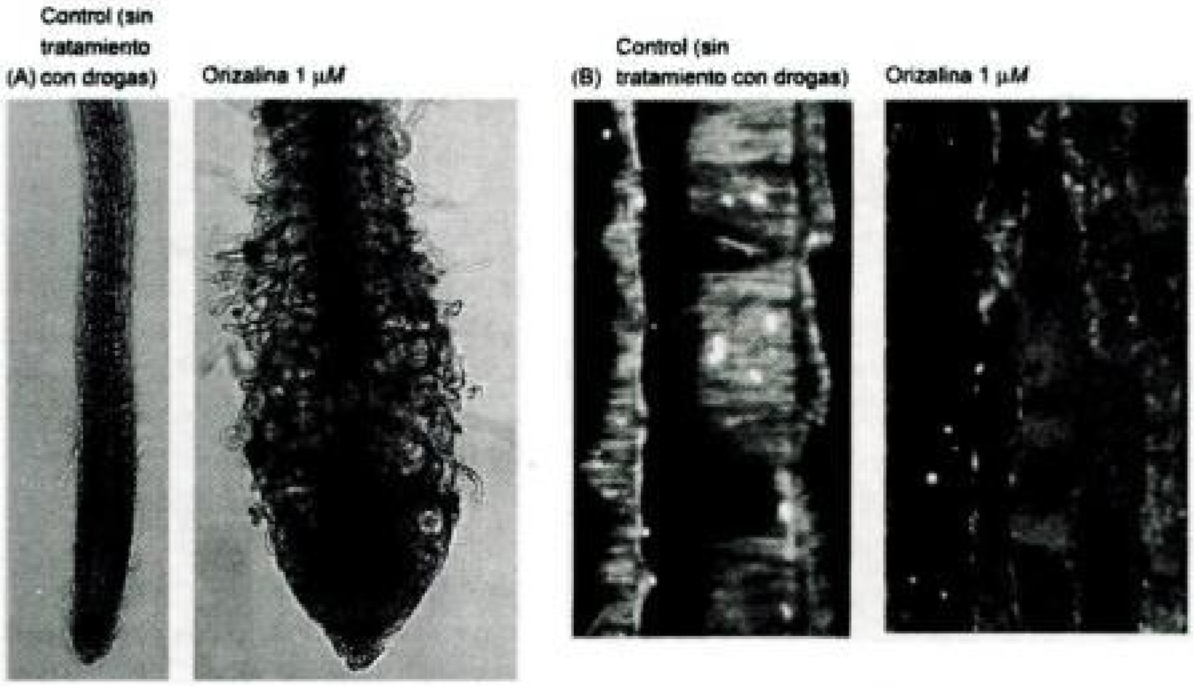

(A)
Control (sin tratamiento con drogas)
Orizalina 1 μM
(B)
Control (sin tratamiento con drogas)
Orizalina 1 μM

Figura 15.23 La ruptura de los microtúbulos corticales da lugar a un aumento dramático de la expansión celular radial y a un descenso concomitante de la elongación. (A) Raíz de una plántula de *Arabidopsis* tratada con el fármaco despolimerizador de microtúbulos orizalina (1μM) durante dos días antes, de que la micrografía fuera tomada. El fármaco ha alterado la polaridad del crecimiento. (B) Los microtúbulos fueron visibles mediante una técnica de inmunofluorescencia indirecta y un anticuerpo antitubulina. Mientras en el control los microtúbulos corticales están orientados en ángulos rectos a la dirección de elongación de la célula, en las raíces tratadas con orizalina 1μM quedan muy pocos microtúbulos. (De Baskin y col. 1994, gentileza de T. Baskin.)

plásmicos. Por ejemplo, existen varios fármacos que se unen a la tubulina, la subunidad proteica de los microtúbulos y provocan su despolimerización. Cuando las raíces en crecimiento son tratadas con un fármaco, como la orizalina, que despolimeriza los microtúbulos, la región de elongación se expande lateralmente, formando un bulbo y una zona similar a un tumor (Figura 15.23).

Esta distorsión del crecimiento se debe a la expansión isotrópica de las células, es decir, a que crecen como una esfera, en lugar de elongarse. La destrucción de los microtúbulos inducida por fármacos en las células en crecimiento también distorsiona la orientación transversal de las microfibrillas de celulosa en las capas de la pared recién depositadas. La deposición de la pared celular continúa en ausencia de los microtúbulos, pero las microfibrillas de celulosa se depositan al azar y la célula se expande por igual en todas las direcciones. Como los fármacos que se unen a los microtúbulos son específicos, los resultados sugieren que los microtúbulos actúan como guía en la orientación de la deposición de las microfibrillas de celulosa.

VELOCIDAD DE ELONGACIÓN CELULAR

Las células vegetales típicas se expanden entre 10 y 100 veces en volumen antes de alcanzar la madurez. En casos extremos, las células pueden aumentar más de 10.000 veces su volumen (por ejemplo, los elementos de los vasos del xilema). La pared celular sufre esta enorme expansión sin perder su integridad mecánica ni adelgazar. Así, los polímeros recién sintetizados se integran en la pared sin desestabilizarla. No se sabe exactamente cómo se lleva a cabo esta integración, aunque el autoensamblaje y la xiloglucano endotransglicosilasa (XET) juegan un papel importante, como se ha descrito anteriormente.

Este proceso de integración puede ser particularmente crítico para el crecimiento rápido de pelos radicales y tubos polínicos y otras células especializadas que presentan un crecimiento según el eje de elongación, en el que la región de deposición de la pared y de expansión superficial está localizada en la cúpula semiesférica del ápice de la células de aspecto tubular, y la expansión celular y la deposición de la pared han de estar estrechamente coordinadas.

En las células que crecen rápidamente con crecimiento según el eje de elongación, la pared duplica su área superficial y se coloca, en cuestión de minutos, en la parte no expandida de la célula. Esta velocidad de expansión es mucho mayor que la que se suele encontrar en las células con crecimiento difuso y las células con crecimiento según el eje de elongación están predispuestas a reducir el grosor de la pared y provocar la plasmólisis. Aunque el crecimiento difuso y el crecimiento según el eje de elongación parecen seguir patrones diferentes, ambos tipos de expansión celular deben tener procesos análogos, si no idénticos, de integración de polímeros, relajación de la tensión y deslizamiento de los polímeros de la pared.

Hay muchos factores que influyen en la velocidad de la expansión de la pared celular. La edad y el tipo de célula son factores de desarrollo importantes. También lo son las hormonas como auxinas y giberelinas. Las condiciones ambientales como la disponibilidad de luz y de agua pueden asimismo modular la expansión celular. Estos factores internos y externos modifican muy probablemente la expansión celular por pérdida de rigidez de la pared celular, que así *se extiende de manera plástica* (irreversiblemente). En este contexto, se habla de las *propiedades plásticas* de la pared celular.

En esta sección, primero examinaremos los parámetros biomecánicos y biofísicos que caracterizan las propiedades plásticas de la pared. Para que las células se expandan del todo se debe debilitar, de algún modo, la rígida pared celular. La pérdida de rigidez de la pared implicada en la expansión celular vegetal se llama *relajación de la tensión*.

De acuerdo con la hipótesis del crecimiento ácido para la acción de las auxinas (véase el capítulo 19), un mecanismo que provoca la relajación de la tensión y la deformación plástica de la pared es la acidificación de la pared celular, como consecuencia de la extrusión de protones a través de la membrana plasmática. La pérdida de rigidez de la pared celular se ve aumentada por un pH ácido. Más adelante revisaremos las bases bioquímicas de la pérdida de rigidez de la pared inducida por ácido y de la relajación de la tensión, estudiando la función de una clase de proteínas de pérdida de rigidez de la pared llamadas *expansinas*.

A medida que las células se aproximan a su tamaño máximo, su tasa de crecimiento disminuye y, finalmente, cesa. Al final de esta sección consideraremos el proceso por el cual el aumento de rigidez de la pared celular conduce al cese del crecimiento.

La relajación de la tensión de la pared celular promueve la absorción de agua y la elongación celular

La pared celular es la principal restricción mecánica que limita la expansión celular, por lo que sus propiedades físicas se han de estudiar con detenimiento. La pared celular vegetal tiene propiedades físicas que son intermedias entre las de una fase sólida y las de una líquida, ya que se trata de un material polimérico hidratado. A estas propiedades se las denomina **propiedades viscoelásticas** o **reológicas** (de flujo). Las paredes celulares en crecimiento son generalmente menos rígidas que las de las células que no están creciendo y, en condiciones apropiadas, muestran una extensión irreversible a largo plazo, o **deformación plástica**, de la que carecen las células que no están creciendo.

La *relajación de la tensión* es un concepto crucial para la comprensión de cómo crecen las paredes celulares (Cosgrove 1997). El término *tensión* se utiliza aquí en el sentido mecánico, como fuerza por unidad de área. Las tensiones de la pared llegan a ser una consecuencia inevitable de la turgencia celular. La presión de turgencia típica en las células vegetales en crecimiento es de 0,3 a 1,0 MPa. La presión de turgencia estira la pared celular y genera una tensión física contrapuesta o tensión de la pared. Debido a la geometría celular (un gran volumen celular contenido por una fina membrana), está tensión de la pared es equivalente a una tensión de extensión de 100 MPa, que es, de hecho, una tensión muy grande.

Este simple hecho tiene consecuencias importantes para el mecanismo de elongación celular. Las células animales pueden cambiar de forma en respuesta a las fuerzas generadas por el citoesqueleto, pero tales fuerzas son indetectables comparadas con las fuerzas que genera la turgencia y que ha de resistir la pared celular vegetal. Para cambiar de forma, las células vegetales deben controlar la dirección y velocidad de la expansión celular, es decir, la orientación de la celulosa que se deposita (que determina la direccionalidad de la expansión de la pared celular) y por la distensión selectiva de los enlaces entre los polímeros de la pared. Esta distensión bioquímica permite a los polímeros de la pared deslizarse unos sobre otros, aumentando el área superficial de la pared. Al mismo tiempo, dicha pérdida de rigidez parcial reduce las tensiones físicas de la pared.

La relajación de la tensión de la pared es crucial porque permite el crecimiento de las células vegetales al reducir su presión de turgencia y potenciales hídricos, que les permite absorber agua y expandirse. Sin relajación de la tensión, la síntesis de la pared sólo la engrosaría, no la expandiría. Durante la deposición de la pared secundaria en células que no están en crecimiento, la relajación de la tensión no se produce.

La velocidad de la expansión celular está gobernada por dos ecuaciones de crecimiento

Cuando las células vegetales crecen antes de la maduración, el aumento del volumen se debe principalmente a la absorción de agua. Este agua va a parar sobre todo a la vacuola, que llega a ocupar una gran parte del volumen celular mientras la célula crece. Aquí describiremos cómo el crecimiento de las células está regulado por la absorción de agua y cómo esta absorción está coordinada por las propiedades plásticas de la pared.

La absorción de agua en las células en crecimiento es un proceso pasivo. No hay bombas de agua activas; en lugar de eso, el crecimiento celular es capaz de reducir el potencial hídrico dentro de la célula, de modo que el agua es incorporada espontáneamente en respuesta a una diferencia de potencial hídrico, sin necesidad de consumir energía directamente.

Definimos la diferencia de potencial hídrico, $\Delta\Psi_w$ (expresada en megapascales), como el potencial hídrico exterior menos el potencial hídrico interior (véanse los capítulos 3 y 4). La velocidad de absorción también depende del área superficial de la célula (A, en metros cuadrados) y de la permeabilidad de la membrana plasmática al agua (L_p, en metros por segundo por megapascales).

La L_p de la membrana es una medida de la facilidad con la que el agua atraviesa la membrana plasmática y es función de su estructura física y de la actividad de las acuaporinas (véase el capítulo 3). Así, tenemos la tasa de absorción de agua en unidades de volumen: $\Delta V/\Delta t$, expresado en metros cúbicos por segundo. Asumiendo que una célula en crecimiento está en contacto con agua pura (con potencial hídrico cero), entonces:

$$\text{Tasa de absorción de agua} = A \times L_p\,(\Delta\Psi_w) = A \times L_p\,(\Psi_e - \Psi_i) \qquad (15.1)$$

Esta ecuación establece que la absorción de agua sólo depende de la superficie celular, de la permeabilidad de la membrana, de la presión de turgencia y del potencial osmótico.

La ecuación 15.1 es válida para las células en agua pura, tanto las que están en crecimiento como aquéllas que no lo están. Pero, ¿cómo podemos explicar el hecho de que las células en crecimiento continúen absorbiendo agua durante mucho tiempo, mientras que las células que no están en crecimiento cesen pronto la absorción de agua?

En una célula que no está creciendo, la absorción de agua aumenta el volumen celular, lo que provoca un fuerte empuje del protoplasto contra la pared celular y aumenta la presión de turgencia, Ψ_P. Este aumento en Ψ_P aumentará el potencial hídrico celular Ψ_w que rápidamente llevará $\Delta\Psi_w$ a cero y cesará la absorción de agua.

En una célula en crecimiento, se evita que $\Delta\Psi_w$ llegue a cero porque la pared celular pierde su rigidez: se expande de modo irreversible en respuesta a las fuerzas que se generan por la turgencia y por tanto, reduce simultáneamente la tensión de pared y la turgencia celular. Este proceso se conoce como **relajación de la tensión**, y es la diferencia física crucial entre las células que están en crecimiento y las que no lo están.

La relajación de la tensión puede comprenderse de la siguiente manera. En una célula turgente, el contenido celular se empuja contra la pared, lo que provoca la extensión elástica (reversible) de la pared, y da lugar a un incremento de la fuerza contrapuesta, la tensión de la pared. En una célula en crecimiento, la pérdida de rigidez bioquímica permite la extensión inelástica (irreversible) de ésta. Como el agua es prácticamente incompresible, se necesita una expansión infinitesimal de la pared para reducir la presión de turgencia y, simultáneamente, la tensión de la pared. Así, *la relajación de la tensión es una disminución de la tensión de pared sin apenas cambios en las dimensiones de ésta.*

Como consecuencia de la relajación de la tensión de pared, el potencial hídrico de la célula se reduce y el agua fluye hacia el interior, lo que provoca una extensión cuantificable de la pared celular y aumenta el área superficial y el volumen de la célula. El crecimiento sostenido de las células vegetales necesita simultáneamente la relajación de la tensión de pared (que tiende a reducir la presión de turgencia) y la absorción de agua (que tiende a aumentar la presión de turgencia).

Se ha demostrado empíricamente que la relajación de la pared y la expansión dependen de la presión de turgencia. A medida que se reduce la turgencia, la relajación de la pared y el crecimiento disminuyen. El crecimiento normalmente cesa antes de que la turgencia llegue a cero. Al valor de turgencia al cual cesa el crecimiento se le denomina **umbral de turgencia** (normalmente representado por el símbolo Y). Esta dependencia de la expansión de la pared celular respecto de la presión de turgencia se resume en la siguiente ecuación:

$$GR = m(\Psi_P - Y) \qquad (15.2)$$

donde GR es la tasa de crecimiento y m es el coeficiente que relaciona la tasa de crecimiento y la presión de turgencia que supera el umbral de turgencia. Normalmente,

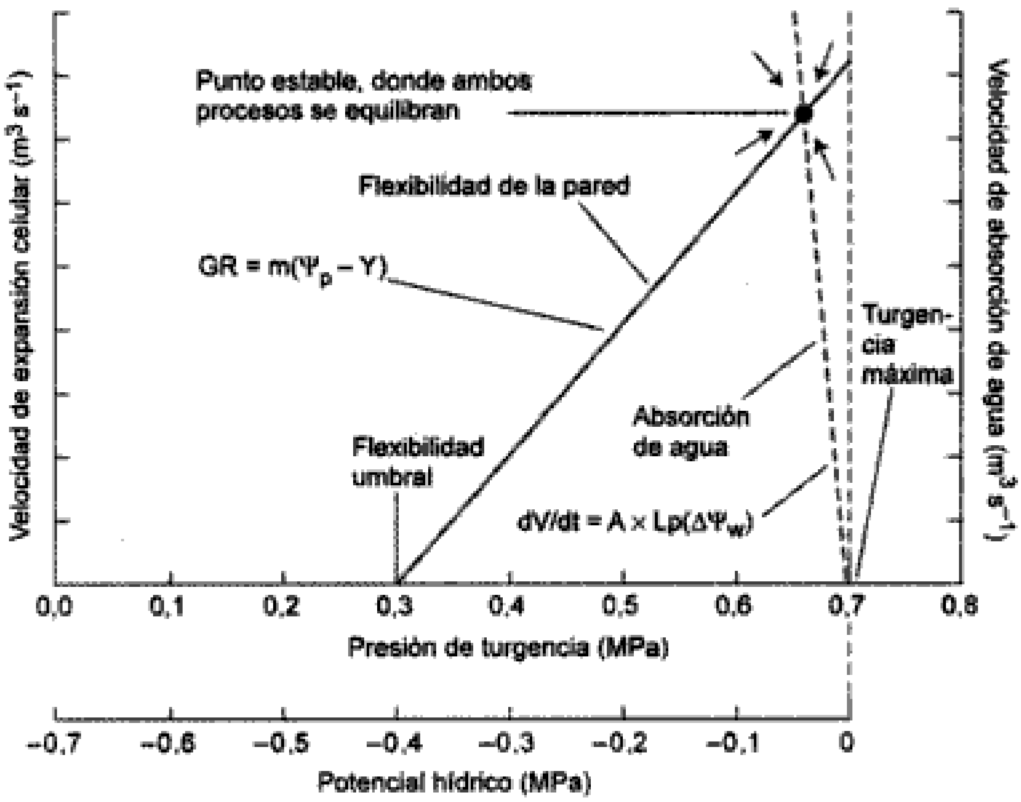


Figura 15.24 Representación gráfica de las dos ecuaciones que relacionan la absorción del agua y la expansión celular con la presión de turgencia celular y el potencial hídrico celular. Los valores para las velocidades de expansión y la absorción del agua son arbitrarios. El crecimiento en estado estacionario se consigue sólo en el punto en el que las dos ecuaciones se cruzan. Cualquier desequilibrio entre la absorción de agua y la expansión de la pared provocará un cambio en la turgencia celular que llevará a la célula de vuelta a este punto estable de intersección entre los dos procesos.

al coeficiente m se le denomina **extensibilidad de la pared** y es *la pendiente de la recta que relaciona la tasa de crecimiento con la presión de turgencia.*

En condiciones de crecimiento de estado estacionario, GR en la ecuación 15.2 equivale a la velocidad de absorción del agua en la ecuación 15.1, es decir, el aumento del volumen de la célula es igual al aumento del volumen de agua absorbida. Las dos ecuaciones están representadas en la figura 15.24. Obsérvese que los dos procesos, la expansión celular y la absorción de agua, muestran reacciones opuestas respecto al cambio en la turgencia. Por ejemplo, un aumento en la presión de turgencia aumenta la extensión de la pared, pero reduce la absorción de agua. En condiciones normales, la turgencia está equilibrada dinámicamente con el crecimiento celular en un punto en el que las dos rectas se cruzan. En ese punto se cumplen ambas ecuaciones y la absorción de agua está exactamente acoplada con el crecimiento de la estructura de la pared.

Esta intersección de la figura 15.24 es la condición de estado estacionario y cualquier desviación de ese punto causará un desequilibrio transitorio entre los procesos

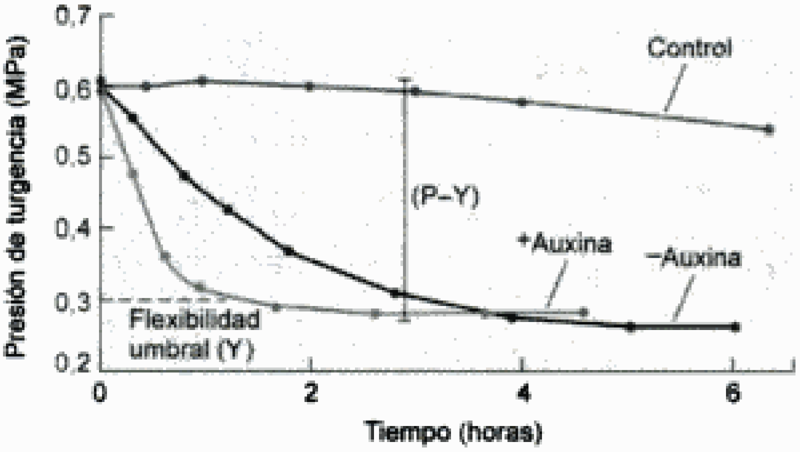


Figura 15.25 Reducción de la presión de turgencia celular (potencial hídrico) por relajación de la tensión. En este experimento, se incubaron segmentos de tallo escindidos de plántulas de guisante en crecimiento con una solución que contenía auxinas y en otra que carecía de ellas. Después se secaron y sellaron en una cámara de humedad. La presión de turgencia celular (P) se midió en varios puntos. Los segmentos tratados con auxinas redujeron rápidamente la presión de turgencia al umbral de turgencia (Y), como resultado de una rápida relajación de pared. Los segmentos sin auxinas mostraron una velocidad de relajación menor. Los segmentos control fueron tratados del mismo modo que el grupo tratado con auxinas, excepto en que permanecieron en contacto con una gota de agua, que evitaba la relajación de la pared. (Según Cosgrove 1985.)

de absorción de agua y expansión celular. El resultado de ese desequilibrio es que la turgencia volverá al punto de la intersección, el punto del estado estacionario dinámico para el crecimiento celular.

La regulación del crecimiento celular, por ejemplo, por hormonas o por la luz, se lleva a cabo por la regulación de los procesos bioquímicos que regulan la pérdida de rigidez de la pared y la relajación de la tensión. Tales cambios pueden medirse como cambios en m o Y.

La absorción de agua inducida por la relajación de la tensión de la pared agranda la célula y tiende a reestablecer la tensión de la pared y la presión de turgencia a los valores de equilibrio, como hemos mostrado. Sin embargo, si se impide que las células en crecimiento absorban agua, la relajación de la pared reduce progresivamente la turgencia celular. Esta situación puede detectarse, por ejemplo, al medir la turgencia con la *sonda de presión* o por las mediciones del potencial con un *psicrómetro* o una *cámara de presión* (véase el **tema web 3.6**). La figura 15.25 muestra los resultados de tales experimentos.

El crecimiento inducido por ácido está mediado por expansinas

Una característica importante de las paredes celulares en crecimiento es que se extienden mucho más rápidamente a pH ácido que a pH neutro (Rayle y Cleeland 1992).

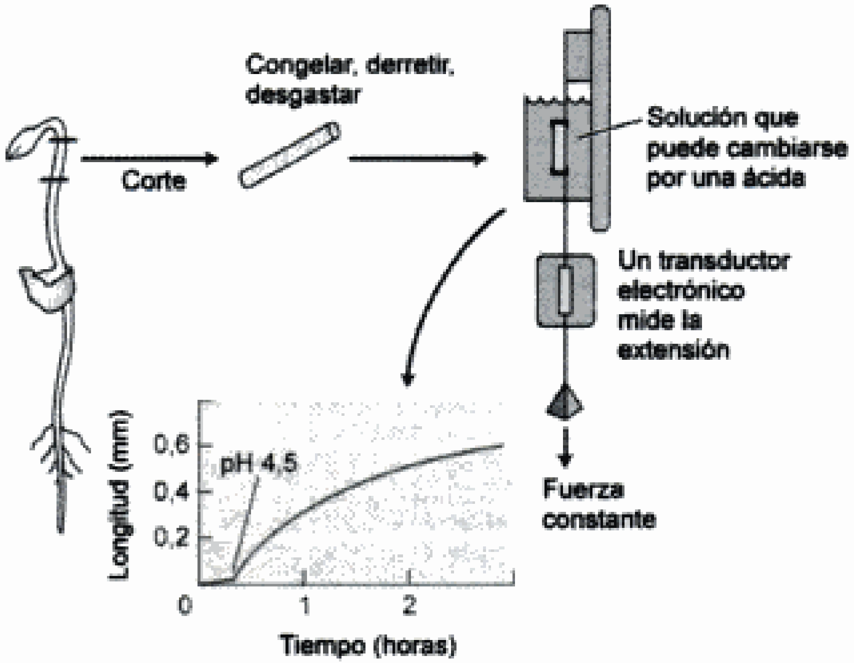

Congelar, derretir, desgastar
Corte
Solución que puede cambiarse por una ácida
Un transductor electrónico mide la extensión
Fuerza constante
Longitud (mm)
0,6
0,4
0,2
pH 4,5
0
1
2
Tiempo (horas)

Figura 15.26 Extensión inducida por ácido de paredes celulares aisladas, medida en un extensómetro. La muestra de la pared de células muertas se sujeta con una pinza y se somete a tensión en un extensómetro, que mide la longitud con un transductor electrónico conectado a la pinza. Cuando la solución próxima a la pared se sustituye por un tampón ácido (por ejemplo, pH 4,5), la pared se extiende en un proceso irreversible y dependiente del tiempo (se desliza).

Este fenómeno se llama **crecimiento ácido.** En células vivas, el crecimiento ácido es evidente cuando se tratan células en crecimiento con tampones ácidos o con fusicocina, un fármaco que induce la acidificación de la solución de la pared celular por activación de una H^+-ATPasa de la membrana plasmática.

Un ejemplo de crecimiento inducido por ácido se encuentra en la iniciación del pelo radical, donde el pH de la pared local disminuye a valores de 4,5 al tiempo que la célula epidérmica empieza a bombear H^+ hacia el exterior (Bibikowa y col. 1998). El crecimiento inducido por auxinas también está asociado con la acidificación de la pared, pero probablemente no es suficiente para explicar la inducción del crecimiento por esta hormona (véase el capítulo 19) y puede haber implicados otros procesos de pérdida de rigidez de la pared. Trabajos recientes implican, por ejemplo, la producción de radicales hidroxilo en la pérdida de rigidez de la pared durante el crecimiento inducido por auxinas (Schopfer 2001). Sin embargo, este mecanismo de la extensión de la pared dependiente del pH parece ser un proceso conservado evolutivamente en todas las plantas terrestres (Cosgrove 2000) e implica una gran variedad de procesos de crecimiento.

El crecimiento ácido también se ha observado en paredes celulares aisladas, que carecen de los procesos celulares, metabólicos y sintéticos normales. Tales observaciones necesitan el uso de extensómetros para poner a las paredes en tensión y medir la dependencia de la **deformación plástica** de la pared respecto del pH (Figura 15.26).

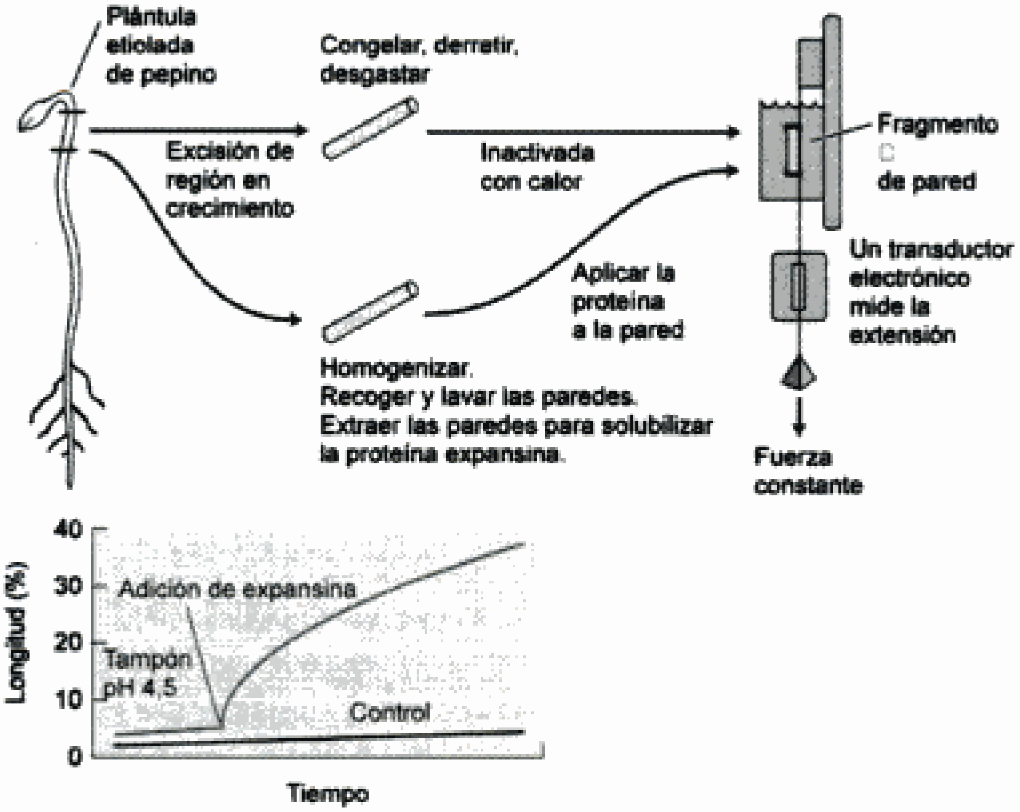

Plántula etiolada de pepino
Excisión de región en crecimiento
Congelar, derretir, desgastar
Inactivada con calor
Fragmento de pared
Un transductor electrónico mide la extensión
Aplicar la proteína a la pared
Homogenizar.
Recoger y lavar las paredes.
Extraer las paredes para solubilizar la proteína expansina.
Fuerza constante
Longitud (%)
40
30
20
10
0
Adición de expansina
Tampón pH 4,5
Control
Tiempo

Figura 15.27 Esquema de la reconstitución de la extensibilidad de paredes celulares aisladas. (A) Se prepararon paredes celulares como en la figura 15.21 y se calentaron brevemente para inactivar la respuesta endógena a la extensión ácida. Para reestablecer esta respuesta, se extrajeron proteínas de paredes en crecimiento y se añadieron a la solución próxima a la pared. (B) La adición de proteínas que contenían expansinas reestableció las propiedades de extensión ácida de la pared. (Según Cosgrove 1997.)

El término *deformación plástica* se refiere a la expansión irreversible dependiente del tiempo, normalmente como resultado del deslizamiento de unos polímeros de la pared respecto de otros. Cuando las paredes en crecimiento se incuban en un tampón neutro (pH 7) y se sujetan con una pinza a un extensómetro, las paredes se extienden brevemente al aplicar la tensión, pero la extensión cesa pronto. Al transferirlas a un pH ácido (pH 5 ó menor), las paredes empiezan a extenderse rápidamente continuando, en algunos casos, durante muchas horas.

La deformación plástica inducida por ácido es característica de las paredes de células en crecimiento, pero no se observa en las paredes maduras (que no están en crecimiento). Cuando las paredes son pretratadas con calor, proteasas u otros agentes desnaturalizantes de proteínas, pierden su capacidad de crecimiento ácido. Tales resultados indican que el crecimiento ácido no es debido simplemente a las propiedades físico-químicas de la pared (al debilitamiento del gel de pectinas), sino que está catalizado por una o más proteínas de la pared.

La idea de que las proteínas son necesarias para el crecimiento ácido fue confirmada por experimentos de reconstitución, en los que se reconstruyeron paredes que habían sido inactivadas por calor, y se observó que respondían al crecimiento ácido tras la adición de proteínas extraídas de paredes celulares en crecimiento (Figura 15.27). Los componentes activos obtenidos resultaron ser un grupo de proteínas que fueron llamadas **expansinas** (McQueen-Mason y col. 1992, Li y col. 1993). Estas proteínas catalizan la extensión dependiente de pH y la relajación de la tensión de las paredes celulares. Son efectivas en cantidades catalíticas (alrededor de 1 parte de proteína por cada 5.000 partes de pared, expresado en peso seco).

Todavía son inciertas las bases moleculares de la acción de las expansinas sobre la reología de la pared, pero muchas evidencias indican que las expansinas provocan la deformación plástica de la pared mediante el debilitamiento de las adhesiones no covalentes entre los polisacáridos de la pared (Cosgrove 2000; Li y Cosgrove 2001). Los estudios de unión sugieren que las expansinas podrían actuar en la interfase entre la celulosa y una o más hemicelulosas.

Con la obtención del genoma completo de *Arabidopsis*, sabemos que este organismo tiene una gran cantidad de genes de expansinas, divididas en dos grandes familias: las α-expansinas y las β-expansinas. Las dos clases de expansinas actúan sobre diferentes polímeros de la pared celular (Cosgrove 2000). Las β-expansinas también se encuentran en el polen de gramíneas, donde probablemente su función es ayudar a la penetración del tubo polínico en el estigma y el estilo (Li y Cosgrove 2001).

Las glucanasas y otros enzimas hidrolíticos pueden modificar la matriz

Se han realizado varios tipos de experimentos cuyos resultados implican a (1→4)-β-D-glucanasas en la pérdida de rigidez de la pared, especialmente durante la elongación celular inducida por auxinas (véase el capítulo 19). Por ejemplo, en experimentos con segmentos escindidos los glucanos de la matriz, como los xiloglucanos, muestran un aumento de la hidrólisis y del recambio cuando se estimula el crecimiento con auxinas. El bloqueo de esta actividad hidrolítica por anticuerpos o lectinas reduce el crecimiento.

La expresión de las (1→4)-β-D-glucanasas está asociada con los tejidos en crecimiento, y la aplicación de glucanasas a las células *in vitro* puede estimular el crecimiento. Tales resultados apoyan la idea de que la relajación de la tensión en la pared y la expansión son el resultado directo de la actividad de las glucanasas que digieren el xiloglucano en dicotiledóneas o (1→3,1→4)-β-D-glucanos en las paredes de las células de gramíneas (Hoson 1993).

Sin embargo, la mayoría de las glucanasas e hidrolasas relacionadas de pared no provocan la expansión de la pared del mismo modo que lo hacen las expansinas. En cambio, el tratamiento de las paredes con glucanasas o pectinasas puede estimular la consiguiente respuesta a las expansinas y, por tanto, producir extensión (Cosgrove y Durachko 1994). Estos resultados sugieren que los enzimas hidrolíticos como las (1→4)-β-D-glucanasas no son las principales catalizadoras de la expansión de la pared, pero pueden modular indirectamente el deslizamiento de los polímeros mediado por expansinas.

También se ha sugerido que la xiloglucano endotransglicosilasa pueda ser un enzima potencial implicado en la pérdida de rigidez de la pared. La XET ayuda a integrar los xiloglucanos recién secretados a la estructura existente de la pared, pero su función como agente que provoca pérdida de rigidez de la pared todavía es puramente especulativa.

El cese de la expansión celular está acompañado por muchos cambios estructurales

El cese del crecimiento que se produce durante la maduración celular es, generalmente, irreversible y está normalmente acompañado por una reducción de la extensibilidad de la pared, como lo demuestran las mediciones realizadas por varios métodos físicos. Estos cambios físicos en la pared podrían ser consecuencia de (1) una reducción de los procesos de pérdida de rigidez de la pared, (2) un aumento del entrecruzamiento de la pared o (3) una alteración de la composición de la pared, que supusieran una estructura más rígida o menos expuesta a la pérdida de rigidez de la pared. Hay algunos resultados que apoyan cada una de estas hipótesis (Cosgrove 1997).

Varias modificaciones de la pared madura pueden contribuir a su endurecimiento:

- Los polisacáridos de la matriz recién secretados pueden estar alterados en su estructura, de manera que formen complejos con la celulosa u otros polímeros de la pared, o pueden ser resistentes a las actividades de pérdida de rigidez de la pared.
- La eliminación de los enlaces mixtos de los β-D-glucanos coincide con el cese del crecimiento en estas paredes.
- La desesterificación de las pectinas, que da lugar a unos geles pécticos más rígidos, está asociada también con el cese del crecimiento en gramíneas y dicotiledóneas.
- El entrecruzamiento de grupos fenólicos en la pared (como los residuos de tirosina de las HRGP, los residuos de ácido ferúlico anclados a las pectinas, y la lignina) coincide generalmente con la maduración de la pared y se cree que está mediado por la peroxidasa, un posible enzima de rigidización de la pared.

Durante y después del cese del crecimiento se producen numerosos cambios estructurales de la pared, pero aún no ha sido posible identificar el significado de los procesos individuales en el cese de la expansión de la pared.

DEGRADACIÓN DE LA PARED Y DEFENSA VEGETAL

La pared celular vegetal no es simplemente un exoesqueleto inerte y estático. Además de actuar como limitación mecánica, la pared actúa como una matriz extracelular que interacciona con las proteínas de la superficie celular y proporciona información respecto de la posición y el desarrollo. Contiene numerosos enzimas y pequeñas moléculas que son biológicamente activas y que pueden modificar las propiedades físicas de la pared, algunas veces en segundos. En algunos casos, las moléculas derivadas de la pared pueden actuar como señales para informar a la célula de las condiciones de su entorno, como la presencia de patógenos. Este aspecto es muy importante en las respuestas de defensa de las plantas (véase el capítulo 13).

Las paredes también pueden ser modificadas sustancialmente después de que el crecimiento ha cesado. Por ejemplo, la pared celular puede ser degradada masivamente, como ocurre durante la maduración del fruto o en el endospermo durante la germinación. En las células que forman las zonas de abscisión de hojas y frutos (véase el capítulo 22), la lámina media puede ser degradada selectivamente y dar lugar a células separadas e independientes. Las células también pueden separarse selectivamente durante la formación de los espacios aéreos intercelulares, durante el nacimiento de la raíz en la germinación de las semillas y durante otros procesos de desarrollo. Las células vegetales también modifican sus paredes durante el ataque patogénico como una forma de defensa.

En la sección siguiente consideraremos dos tipos de cambios dinámicos que se producen en las paredes celulares maduras: la hidrólisis y el entrecruzamiento oxidativo. También analizaremos cómo los fragmentos liberados de la pared durante el ataque patogénico o incluso durante el recambio normal de la pared celular, pueden actuar como señales celulares que influyen en el metabolismo y desarrollo.

Los enzimas median la hidrólisis y la degradación de la pared

Las hemicelulosas y las pectinas pueden ser modificadas y cortadas por la acción de una gran variedad de enzimas que se encuentran naturalmente en la pared celular. Este proceso ha sido estudiado con mayor detalle en la maduración de los frutos, en la que se cree que el reblandecimiento es el resultado del desensamblaje de la pared (Rose y Bennett 1999). Las glucanasas y enzimas relacionados pueden hidrolizar el esqueleto de las hemicelulosas, mientras que las xilosidasas y enzimas relacionados pueden eliminar las cadenas laterales del esqueleto del xiloglucano. Las transglicosilasas pueden cortar y unir hemicelulosas. Tales cambios enzimáticos pueden alterar las propiedades físicas de la pared, por ejemplo, al cambiar la viscosidad de la matriz o alterar la tendencia de las hemicelulosas a unirse a la celulosa.

Los RNA mensajeros de las expansinas se expresan en la maduración del fruto del tomate, lo que sugiere que juegan un papel importante en el desensamblaje de la pared (Rose y col. 1997). Del mismo modo, durante el ablandamiento de los frutos se expresan altos niveles de pectin-metilesterasa, que hidroliza los ésteres metílicos de las pectinas. Esta hidrólisis hace que las pectinas sean más sensibles a la hidrólisis posterior por pectinasas y enzimas relacionados. La presencia en la pared celular de estos enzimas relacionados indica que las paredes pueden ser modificadas durante el desarrollo.

El ataque patogénico va acompañado por un estallido oxidativo

Cuando las células vegetales son dañadas o tratadas con moléculas elicitoras de masa molecular pequeña (véase el capítulo 13), activan la respuesta de defensa que da lugar a la producción de una alta concentración de peróxido de hidrógeno, radicales superóxido y otras especies activas del oxígeno en la pared celular. Este «estallido oxidativo» parece formar parte de la respuesta de defensa contra la invasión por patógenos (véase el capítulo 13) (Brisson y col. 1994; Otte y Barz 1996).

Las especies activas del oxígeno pueden atacar directamente a los organismos patógenos y pueden detener de forma indirecta la posterior invasión por patógenos mediante un rápido entrecruzamiento de los compuestos fenólicos de la pared celular. En tallos de tabaco, por ejemplo, las proteínas estructurales ricas en prolina de la pared se hacen rápidamente insolubles tras la herida o el tratamiento con elicitores y este entrecruzamiento está asociado con el estallido oxidativo y los mecanismos de rigidización mecánica de las paredes celulares.

Los fragmentos de la pared actúan como moléculas de señalización

La degradación de las paredes celulares puede dar lugar a la producción de fragmentos biológicamente activos de 10 a 15 residuos de longitud, llamados **oligosacarinas**, que pueden estar implicados en las respuestas de defensa (véase el **tema web 15.5**). Algunos de los efectos fisiológicos y del desarrollo de las oligosacarinas son la estimulación de la síntesis de fitoalexinas, el estallido oxidativo, la síntesis de etileno, la despolarización de la membrana, cambios en el calcio citoplásmico, la síntesis inducida de proteínas relacionadas con el patógeno, como la quitinasa y la glucanasa, otras señales de «herida» locales y sistémicas y alteraciones en el crecimiento y morfogénesis de muestras de tejidos aislados (John y col. 1997).

Los ejemplos mejor estudiados son los elicitores oligosacarídicos producidos durante la invasión por patógenos (véase el capítulo 13). Por ejemplo, el hongo

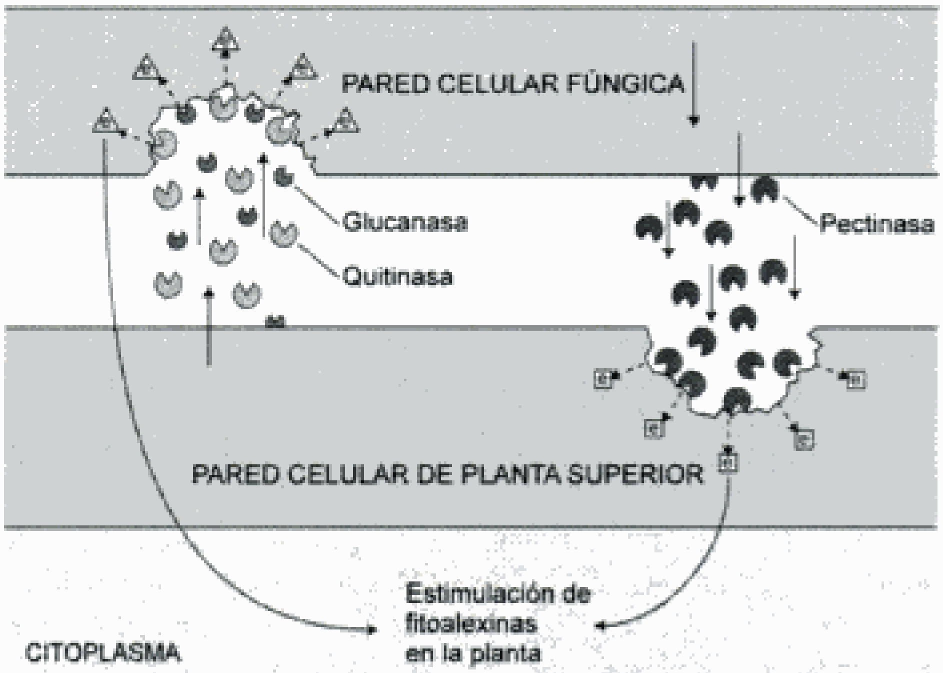

PARED CELULAR FÚNGICA
Glucanasa
Quitinasa
Pectinasa
PARED CELULAR DE PLANTA SUPERIOR
Estimulación de fitoalexinas en la planta
CITOPLASMA

Figura 15.28 Esquema de la producción de oligosacarinas durante la invasión fúngica de las células vegetales. Los enzimas secretados por la planta, como la quitinasa y la glucanasa, atacan la pared del hongo y liberan oligosacarinas que elicitan la producción de compuestos de defensa (fitoalexinas) en la planta. Del mismo modo, la pectinasa fúngica libera oligosacarinas biológicamente activas desde la pared celular vegetal. (Según Brett y Waldron 1996.)

Phytophthora secreta una endopoligalacturonasa (un tipo de pectinasa) durante su ataque a los tejidos vegetales. A medida que este enzima degrada el componente péctico de la pared celular vegetal, se producen fragmentos de pectina, **oligogalacturonanos**, que elicitan múltiples respuestas de defensa en la célula vegetal (Figura 15.28). Los oligogalacturonanos que tienen de 10 a 13 residuos de longitud son los más activos en estas respuestas.

Las paredes celulares vegetales también contienen β-D-glucanasa que ataca al β-D-glucano específico de la pared celular del hongo. Cuando este enzima ataca la pared fúngica, se liberan oligómeros de glucano con una potente actividad elicitora. Los componentes de la pared sirven en este caso como parte de un sistema para la detección del patógeno.

Las oligosacarinas también pueden funcionar durante el control normal del crecimiento y la diferenciación celular. Por ejemplo, se ha visto que un nonasacárido específico (un oligosacárido con nueve residuos de azúcar) derivado del xiloglucano inhibe la promoción del crecimiento por una auxina, el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). El nonasacárido actúa a una concentración óptima de 10^{-9} M. Esta oligosacarina del xiloglucano puede actuar como un inhibidor del crecimiento por retroalimentación; por ejemplo, cuando la ruptura del xiloglucano inducida por auxina es máxima, puede evitar la excesiva debilidad de la pared. También se ha demostrado que los oligómeros del xiloglucano relacionados influyen en la organogénesis en cultivos tisulares y pueden participar ampliamente en la diferenciación celular (Creelman y Mullet 1997).

RESUMEN

La arquitectura, mecánica y función de las plantas depende de forma crucial de la estructura de la pared celular. La pared es secretada y ensamblada como una estructura compleja cuya forma y composición varían a medida que la célula se diferencia. Las paredes celulares primarias se sintetizan en células que están en crecimiento activo y las paredes secundarias se depositan en ciertas células, como los elementos de los vasos del xilema y el esclerénquima, una vez que cesa la expansión celular.

El modelo básico de la pared primaria es una red de microfibrillas de celulosa embebidas en una matriz de hemicelulosas, pectinas y proteínas estructurales. Las microfibrillas de celulosa son estructuras muy ordenadas de cadenas de glucanos sintetizadas en la membrana por complejos proteicos llamados partículas roseta. Recientemente se han identificado los genes de la celulosa sintasa en las plantas, lo que ha permitido descubrir que una gran familia de genes codifica éstas y otras proteínas relacionadas. La matriz es secretada a la pared desde el aparato de Golgi. Las hemicelulosas y las proteínas entrecruzan microfibrillas y las pectinas forman geles hidrofílicos que pueden ser entrecruzados por iones calcio. El ensamblaje de la pared puede estar mediado por enzimas. Por ejemplo, la xiloglucano endotransglicoxilasa tiene la capacidad de llevar a cabo reacciones de transglicosilación que integran xiloglucanos recién sintetizados a la pared.

Las paredes secundarias difieren de las primarias en que contienen mayor porcentaje de celulosa, tienen diferentes hemicelulosas y la lignina reemplaza a las pectinas en la matriz. Las paredes secundarias también pueden estar muy engrosadas, ser rígidas y contener proteínas estructurales especializadas embebidas.

En las células con crecimiento difuso, la direccionalidad del crecimiento viene determinada por la estructura de la pared, en particular, por la orientación de las microfibrillas de celulosa, que a su vez viene determinada por la orientación de los microtúbulos en el citoplasma. Dejando aparte el meristemo, las células se elongan mucho. El crecimiento celular está limitado por la capacidad de la pared celular de sufrir una deformación plástica, que a su vez está controlado de forma compleja por la adhesión entre sí de polímeros de la pared y por la influencia de las proteínas que provocan la pérdida de rigidez dependiente de pH como las expansinas, las glucanasas y otros enzimas.

De acuerdo con la hipótesis del crecimiento ácido, la extrusión de protones que realiza la H^+-ATPasa acidifica la pared, y activa las expansinas. Las expansinas inducen la relajación de la tensión de la pared por distensión de los enlaces que mantienen unidas a las microfibrillas. El cese de la elongación celular parece ser debido a la rigidización de la pared celular provocada por un aumento del número de entrecruzamientos.

Los enzimas hidrolíticos pueden degradar las paredes celulares maduras, completa o selectivamente, durante la maduración del fruto, la germinación de las semillas y la formación de las capas de abscisión. Las paredes celulares también pueden sufrir entrecruzamientos oxidativos en respuesta al ataque por patógenos. Además, dicho ataque por patógenos puede liberar fragmentos de la pared celular, algunos de los cuales tienen la capacidad de actuar como agentes de señalización celular.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

15.1 Terminología de la química de los polisacáridos

Se aporta una breve revisión de los términos que se utilizan para describir estructuras, enlaces y polímeros en la química de los polisacáridos.

15.2 Modelo molecular de la síntesis de celulosa y otros polisacáridos de la pared, que consiste en la repetición de un disacárido

Se presenta un modelo para la polimerización de unidades de celobiosa en cadenas de glucano por el enzima celulosa sintasa.

15.3 Componentes de la matriz de la pared celular

Se puede demostrar, a nivel ultraestructural, la secreción de xiloglucanos y proteínas glicosiladas por parte del aparato de Golgi.

15.4 Las propiedades mecánicas de las paredes celulares: Estudios con *Nitella*

Se describen experimentos que demuestran que el 25 % más interno de la pared determina la direccionalidad de la expansión celular.

15.5 Estructura de las oligosacarinas biológicamente activas

Se ha demostrado que algunos fragmentos de la pared celular tener actividad biológica.

ENSAYO WEB

15.1 Los gradientes de calcio y las oscilaciones en el crecimiento del tubo polínico

Se describe el papel del calcio en la regulación del crecimiento de la punta del tubo polínico.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Amor Y., Haigler C. H., Johnson S., Wainscott M. y Delmer D. P. (1995) A membrane-associated form of sucrose synthase and its potential role in synthesis of cellulose and callose in plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 9353–9357.

Arioli T., Peng L., Betzner A. S., Burn J., Wittke W., Herth W., Camilleri C., Hofte H., Plazinski J., Birch R., Cork A., Glover J., Redmond J. y Williamson R. E. (1998) Molecular analysis of cellulose biosynthesis in *Arapidopsis*. *Science* 279: 717–720.

Baskin T. I., Wilson J. E., Cork A. y Williamson R. E. (1994) Morphology and microtubule organization in *Arabidopsis* roots exposed to oryzalin or taxol. *Plant Cell Physiol.* 35: 935–942.

Bibikova T. N., Jacob T., Dahse I. y Gilroy S. (1998) Localized changes in apoplastic and cytoplasmic pH are associated with root hair development in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 125: 2925–2934.

Brett C. T. y Waldron K. W. (1996) *Physiology and Biochemistry of Plant Cell Walls*, 2ª ed. Chapman and Hall, London.

Brisson L. F., Tenhaken R. y Lamb C. (1994) Function of oxidative cross-linking of cell wall structural proteins in plant disease resistance. *Plant Cell* 6: 1703–1712.

Brown R. M., Jr., Saxena I. M. y Kudlicka K. (1996) Cellulose biosynthesis in higher plants. *Trends Plant Sci.* 1: 149–155.

Buchanan B. B., Gruissem W. y Jones R. L., eds. (2000) *Biochemistry and Molecular Biology of Plants.* Amer. Soc. Plant Physiologists, Rockville, MD.

Carpita N. C. (1996) Structure and biogenesis of the cell walls of grasses. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 455–476.

Carpita N. C. y McCann M. (2000) The cell wall. En *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, B. B. Buchanan W. Gruissem y R. L. Jones, eds., American Society of Plant Biologists, Rockville, MD, págs. 52–108.

Cheung A. Y., Zhan X. Y., Wang H. y Wu H.-M. (1996) Organ-specific and Agamous-regulated expression and glycosylation of a pollen tube growth-promoting protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 3853–3858.

Cosgrove D. J. (1985) Cell wall yield properties of growing tissues. Evaluation by in vivo stress relaxation. *Plant Physiol.* 78: 347–356.

Cosgrove D. J. (1997) Relaxation in a high-stress environment: The molecular bases of extensible cell walls and cell enlargement. *Plant Cell* 9: 1031–1041.

Cosgrove D. J. (2000) Loosening of plant cell walls by expansins. *Nature* 407: 321–326.

Cosgrove D. J. y Durachko D. M. (1994) Autolysis and extension of isolated walls from growing cucumber hypocotyls. *J. Exp. Bot.* 45: 1711–1719.

Creelman R. A. y Mullet J. E. (1997) Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates: Nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression. *Plant Cell* 9: 1211–1223.

Darley C. P., Forrester A. M. y McQueen-Mason S. J. (2001) The molecular basis of plant cell wall extension. *Plant Mol. Biol.* 47: 179–195.

Delmer D. P. y Amor Y. (1995) Cellulose biosynthesis. *Plant Cell* 7: 987–1000.

Gaspar Y., Johnson K. L., McKenna J. A., Bacic A. y Schultz C. J. (2001) The complex structures of arabinogalactan-proteins and the journey towards understanding function. *Plant Mol. Biol.* 47: 161–176.

Gunning B. S. y Steer M. W. (1996) *Plant Cell Biology: Structure and Function*. Jones and Bartlett Publishers, Boston.

Hayashi T. (1989) Xyloglucans in the primary cell wall. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40: 139–168.

Holland N., Holland D., Helentjaris T., Dhugga K. S., Xoconostle-Cazares B. y Delmer D. P. (2000) A comparative analysis of the plant cellulose synthase (CesA) gene family. *Plant Physiol.* 123: 1313–1324.

Hoson T. (1993) Regulation of polysaccharide breakdown during auxin-induced cell wall loosening. *J. Plant Res.* 103: 369–381.

Ishii T., Matsunaga T., Pellerin P., O'Neill M. A., Darvill A. y Albersheim P. (1999) The plant cell wall polysaccharide rhamnogalacturonan II self-assembles into a covalently cross-linked dimer. *J. Biol. Chem.* 274: 13098–13104.

John M., Röhrig H., Schmidt J., Walden R. y Schell J. (1997) Cell signalling by oligosaccharides. *Trends Plant Sci.* 2: 111–115.

Kimura S., Laosinchai W., Itoh T., Cui X. J., Linder C. R. y Brown R. M., Jr. (1999) Immunogold labeling of rosette terminal cellulose-synthesizing complexes in the vascular plant *Vigna angularis*. *Plant Cell* 11: 2075–2085.

Li L.-C. y Cosgrove D. J. (2001) Grass group I pollen allergens (beta-expansins) lack proteinase activity and do not cause wall loosening via proteolysis. *Eur. J. Biochem.* 268: 4217–4226.

Li Z.-C., Durachko D. M. y Cosgrove D. J. (1993) An oat coleoptile wall protein that induces wall extension in vitro and that is antigenically related to a similar protein from cucumber hypocotyls. *Planta* 191: 349–356.

McCann M. C., Wells B. y Roberts K. (1990) Direct visualization of cross-links in the primary plant cell wall. *J. Cell Sci.* 96: 323–334.

McQueen-Mason S., Durachko D. M. y Cosgrove D. J. (1992) Two endogenous proteins that induce cell wall expansion in plants. *Plant Cell* 4: 1425–1433.

Nishitani K. (1997) The role of endoxyloglucan transferase in the organization of plant cell walls. *Int. Rev. Cytol.* 173: 157–206.

O'Neill M. A., Eberhard S., Albersheim P. y Darvill A. G. (2001) Requirement of borate cross-linking of cell wall rhamnogalacturonan II for *Arabidopsis* growth. *Science* 294: 846–849.

Otte O. y Barz W. (1996) The elicitor-induced oxidative burst in cultured chickpea cells drives the rapid insolubilization of two cell wall structural proteins. *Planta* 200: 238–246.

Pear J. R., Kawagoe Y., Schreckengost W. E., Delmer D. P. y Stalker D. M. (1996) Higher plants contain homologs of the bacterial celA genes encoding the catalytic subunit of cellulose synthase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 12637–12642.

Peng L., Kawagoe Y., Hogan P. y Delmer D. (2002) Sitosterol-b-glucoside as primer for cellulose synthesis in plants. *Science* 295: 147–148.

Rayle D. L. y Cleland R. E. (1992) The acid growth theory of auxin-induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiol.* 99: 1271–1274.

Richmond T. A. y Somerville C. R. (2000) The cellulose synthase superfamily. *Plant Physiol.* 124: 495–498.

Roland J. C., Reis D., Mosiniak M. y Vian B. (1982) Cell wall texture along the growth gradient of the mung bean hypocotyl: Ordered assembly and dissipative processes. *J. Cell Sci.* 56: 303-318.

Rose J. K. C. y Bennett A. B. (1999) Cooperative disassembly of the cellulose-xyloglucan network of plant cell walls: Parallels between cell expansion and fruit ripening. *Trends Plant Sci.* 4: 176–183.

Rose J. K. C., Lee H. H. y Bennett A. B. (1997) Expression of a divergent expansin gene is fruit-specific and ripening-regulated. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 5955–5960.

Salnikov V. V., Grimson M. J., Delmer D. P. y Haigler C. H. (2001) Sucrose synthase localizes to cellulose synthesis sites in tracheary elements. *Phytochemistry* 57: 823–833.

Schopfer P. (2001) Hydroxyl radical-induced cell-wall loosening in vitro and in vivo: Implications for the control of elongation growth. *Plant J.* 28: 679–688.

Séné, C. F. B., McCann M. C., Wilson R. H. y Grinter R. (1994) Fourier-transform Raman and Fourier-transform infrared spectroscopy. An investigation of five higher plant cell walls and their components. *Plant Physiol.* 106: 1623–1631.

Smith R. C. y Fry S. C. (1991) Endotransglycosylation of xyloglucans in plant cell suspension cultures. *Biochem. J.* 279: 529–536.

Thompson J. E. y Fry S. C. (2001) Restructuring of wall-bound xyloglucan by transglycosylation in living plant cells. *Plant J.* 26: 23–34.

Wilson R. H., Smith A. C., Kacurakova M., Saunders P. K., Wellner N. y Waldron K. W. (2000) The mechanical properties and molecular dynamics of plant cell wall polysaccharides studied by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Plant Physiol.* 124: 397–405.

Capítulo 16

CRECIMIENTO Y DESARROLLO

LA FASE VEGETATIVA DEL DESARROLLO se inicia con la embriogénesis, aunque el desarrollo continúa durante toda la vida de la planta. Los biólogos dedicados al desarrollo vegetal centran su trabajo en cuestiones relativas a ¿cómo el zigoto llega a ser embrión y el embrión una plántula? ¿Cómo las nuevas estructuras vegetales proceden de las estructuras preexistentes? Los órganos se generan por división y expansión, pero también están formados por tejidos en los que grupos de células han adquirido funciones especializadas, y estos tejidos están estructurados en patrones determinados. ¿Cómo dan lugar esos tejidos a un patrón determinado, y cómo se diferencian las células? ¿Cuáles son los principios que dirigen el aumento de tamaño (crecimiento) que se produce en todo el desarrollo vegetal?

La comprensión del crecimiento, de la diferenciación celular y de los patrones de formación a nivel celular, bioquímico y molecular es la meta de los biólogos del desarrollo. Esta comprensión también incluye el conocimiento de las bases genéticas del desarrollo. ¿Qué genes están implicados, cuál es su orden jerárquico, y cómo llevan a cabo los cambios en el desarrollo?

En este capítulo analizaremos lo que se conoce sobre estas cuestiones, comenzando con la embriogénesis. La embriogénesis inicia el desarrollo vegetal, pero a diferencia del desarrollo animal, el desarrollo vegetal es un proceso continuo. La embriogénesis establece el plan básico del cuerpo vegetal y forma los meristemos que generan órganos adicionales en el adulto.

Después de analizar la formación del embrión, examinaremos los meristemos apicales radicales y caulinares. La mayor parte del desarrollo vegetal es postembrionario, y se produce desde los meristemos. Los meristemos pueden ser considerados como factorías celulares en las que los procesos continuos de división celular, expansión y diferenciación generan el cuerpo vegetal. Las células derivadas de los meristemos forman los tejidos y órganos que determinan el tamaño, forma y estructura de la planta.

Los meristemos vegetativos son altamente repetitivos, producen las mismas estructuras o similares una y otra vez, y su actividad puede continuar indefinidamente, un fenómeno conocido como *crecimiento indeterminado*. Algunos árboles de vida larga, como *Pinus longaeva* y secuoyas, continúan su crecimiento durante miles de años. Otras, particularmente las plantas anuales, pueden cesar el desarrollo vegetativo con el inicio de la floración después de sólo unas pocas semanas o meses de crecimiento. Finalmente, la planta adulta sufre una transición del desarrollo vegetativo al reproductivo, que culmina con la producción de un zigoto y el proceso empieza de nuevo. El desarrollo reproductivo se analizará en el capítulo 24.

Las células derivadas de los meristemos apicales muestran patrones específicos de expansión celular, y estos patrones de expansión determinan la forma y el tamaño final de la planta. Examinaremos cómo se analiza el crecimiento vegetal después de analizar los meristemos, con especial atención a los patrones de crecimiento en el espacio (relaciones de las estructuras vegetales) y en el tiempo (cuándo se producen dichos acontecimientos).

Finalmente, a pesar de su crecimiento indeterminado, las plantas como otros organismos multicelulares, sufren senescencia y mueren. Al final de este capítulo consideraremos la muerte como un fenómeno del desarrollo, tanto a nivel celular como de todo el organismo. Para una revisión histórica del estudio del desarrollo vegetal, véase el **ensayo web 16.1**.

EMBRIOGÉNESIS

El proceso de desarrollo conocido como **embriogénesis** inicia el desarrollo vegetal. Aunque la embriogénesis normalmente se inicia con la unión de una célula espermática con una ovocélula, formando una célula única llamada *zigoto*, las células somáticas también pueden sufrir embriogénesis en circunstancias especiales. La fertilización también inicia otros tres programas de desarrollo: desarrollo de endospermo, semilla y fruto. Nos centraremos en la embriogénesis ya que proporciona la clave de la comprensión del desarrollo vegetal.

La embriogénesis transforma un zigoto unicelular en una planta embrionaria multicelular y microscópica. Un **embrión** completo posee el cuerpo vegetal básico de una planta madura y muchos de los tejidos adultos, aunque están presentes de forma rudimentaria.

La **doble fecundación** es exclusiva de las angiospermas (véanse los **temas web 1.1 y 1.2**). En las plantas, como en otros eucariotas, la unión de una célula espermática con la ovocélula forma un zigoto de unicelular. En las angiospermas, no obstante, este acontecimiento va acompañado de un segundo evento de fecundación, en el que otra célula espermática se une a dos núcleos polares para formar un núcleo

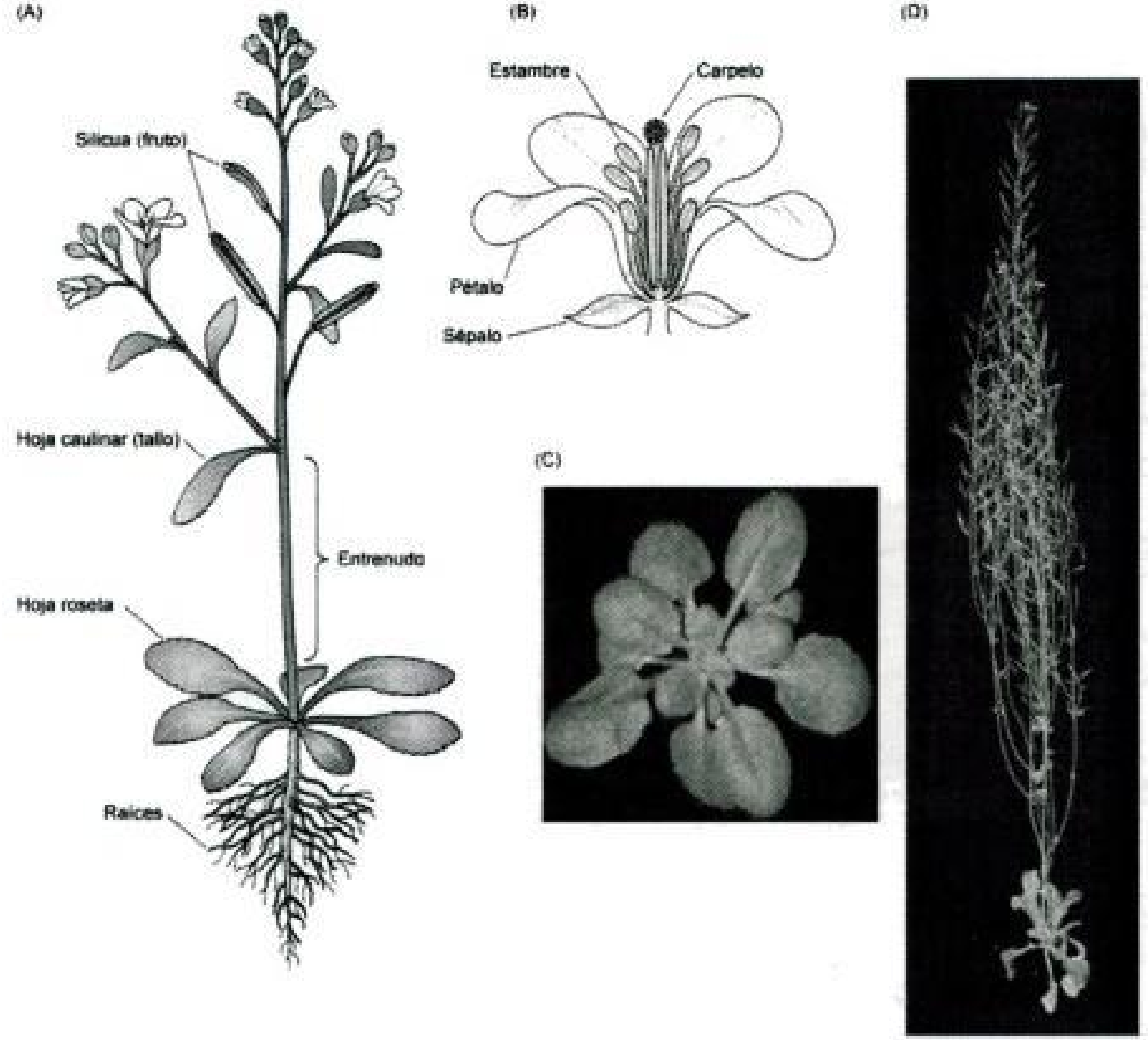


Figura 16.1 *Arabidopsis thaliana.* (A) Dibujo de una planta de *Arabidopsis* madura mostrando sus diversos órganos. (B) Dibujo de una flor mostrando sus órganos florales. (C) Una planta vegetativa inmadura consta de hojas basales en roseta y un sistema radical (no mostrado). (D) Una planta madura después de que muchas de sus flores hayan madurado y se hayan desarrollado silicuas. (A y B según Clark 2001; C y D cortesía de Caren Chang.)

de endospermo triploide, a partir del cual se desarrollara el ***endospermo*** (el tejido que aporta los nutrientes para el desarrollo del embrión).

La embriogénesis se produce en el **saco embrionario** del primordio seminal, mientras que el saco embrionario y estructuras asociadas darán lugar a la **semilla**. La embriogénesis y el desarrollo del endosperma se producen paralelamente durante el desarrollo de la semilla, y el embrión forma parte de la semilla. El endospermo también puede formar parte de la semilla madura, aunque en algunas semillas desaparece antes de que se haya completado el desarrollo de la semilla. La embriogénesis y el desarrollo de la semilla son procesos altamente ordenados e integrados, iniciándose los dos tras la doble fecundación. Una vez completados, la semilla y el embrión entran en latencia y son capaces de sobrevivir durante largos períodos de tiempo en condiciones desfavorables para el crecimiento. La capacidad para formar semillas es una de las claves del éxito evolutivo tanto de angiospermas como gimnospermas.

El hecho de que los zigotos den lugar a un embrión organizado con una estructura predecible y específica para cada especie nos indica que el zigoto está genéticamente programado para desarrollarse de una forma determinada, y que la división, la expansión y la diferenciación celular están fuertemente controladas durante la embriogénesis. Si estos procesos se produjeran al azar en el embrión, el resultado sería un grupo de células desorganizadas sin forma ni función determinadas.

En esta sección examinaremos estos cambios con mayor detalle. Nos centraremos en los estudios genéticos moleculares que se han llevado a cabo con *Arabidopsis* y que han proporcionado gran información sobre el desarrollo vegetal. Es muy probable que la mayoría de las angiospermas usen mecanismos similares de desarrollo, que aparecieron tempranamente en la evolución de las angiospermas y que la diversidad de las formas vegetales se haya producido por cambios sutiles en el tiempo y lugar de expresión de los reguladores moleculares del desarrollo, más que efecto de mecanismos diferentes (Doebley y Luckens 1998).

Arabidopsis thaliana es un miembro de la familia de las Brasicáceas, o de la familia de la mostaza (Figura 16.1). Se trata de una planta pequeña, muy apropiada para el cultivo en laboratorio y experimentación. Se la ha llamado la *Drosophila* de la biología vegetal debido a su uso extendido en el estudio de la genética vegetal y los mecanismos moleculares genéticos, particularmente para comprender los cambios del desarrollo vegetal. Fue la primera planta superior cuyo genoma se secuenció completamente. Además, a nivel internacional se está realizando un gran esfuerzo para conocer la función de cada uno de los genes del genoma de *Arabidopsis* para el año 2010. En consecuencia, estamos más próximos de conocer los mecanismos moleculares que dirigen la embriogénesis de *Arabidopsis* que de ninguna otra especie vegetal.

La embriogénesis establece las características esenciales de la planta madura

Las plantas se diferencian de la mayoría de los animales en que la embriogénesis no genera directamente los tejidos y los órganos del adulto. Por ejemplo, la embriogénesis en angiospermas forma el cuerpo rudimentario de una planta, que consta típicamente de un eje embrionario y dos cotiledones (si es una dicotiledónea). No obstante, la embriogénesis establece los dos patrones básicos del desarrollo que se mantienen y pueden verse fácilmente en la planta adulta:

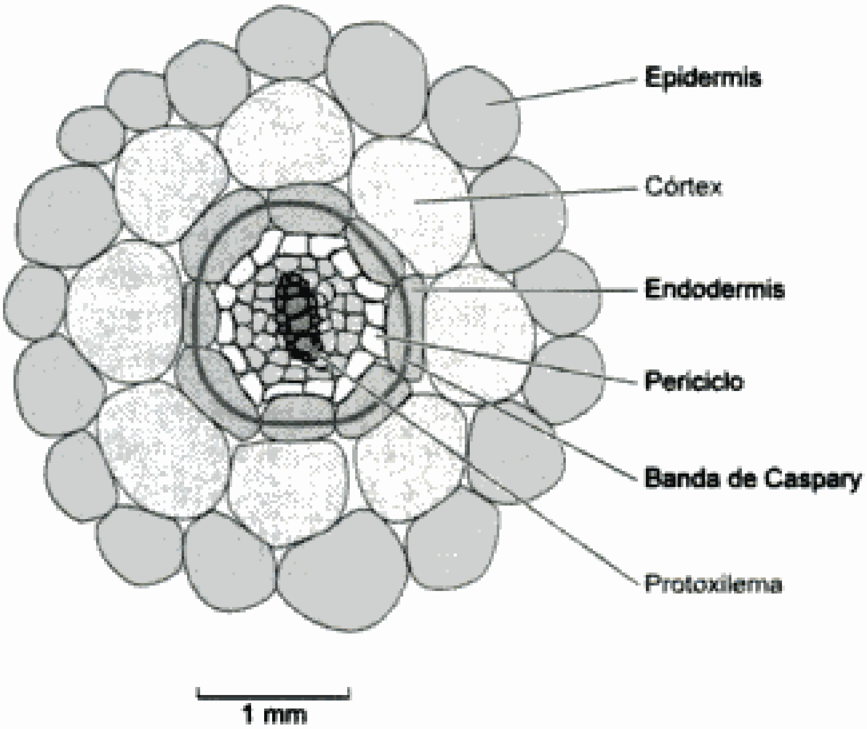


Figura 16.2 El patrón radial de tejidos que se encuentran en los órganos de una planta puede observarse en una sección transversal de raíz. Esta sección transversal de raíz de *Arabidopsis* está aproximadamente a 1 mm del ápice de la raíz, una región en la que se han formado diferentes tejidos.

1. El patrón del desarrollo del eje apical-basal.
2. El patrón radial de tejidos en tallos y raíces.

La embriogénesis también establece los **meristemos primarios**. La mayoría de las estructuras que forman la planta adulta se generan tras la embriogénesis por actividad de meristemos. Aunque estos meristemos primarios están bien establecidos durante la embriogénesis, sólo llegarán a ser activos tras la germinación y empezarán a generar los órganos y tejidos de la planta adulta.

Patrón axial. Casi todas las plantas muestran una *polaridad axial* en la que los tejidos y órganos se organizan en un orden preciso a lo largo de un eje lineal polarizado. El meristemo apical del brote o caulinar se encuentra en uno de los extremos del eje, y el meristemo apical de la raíz está en el otro. En el embrión y en la plántula, uno o dos cotiledones están insertados justo debajo del meristemo apical caulinar. A continuación, en esta disposición lineal, se encuentra el hipocotilo, seguido de la raíz, el meristemo apical radicular y la caliptra o cofia. Este patrón axial se establece durante la embriogénesis.

Lo que no parece ser tan obvio es el hecho de que un segmento bien de un brote o de una raíz tenga también extremos basal y apical, con propiedades fisiológicas y estructurales diferentes. Por ejemplo, mientras que las raíces adventicias se desarrollan a partir de los extremos basales de estaquillas, las yemas se desarrollan a partir de los extremos apicales, incluso si se invierten (véase la figura 19.12).

Patrón radial. Los diferentes tejidos están organizados en un patrón preciso en los órganos vegetales. En los tallos y las raíces, los tejidos están estructurados en un patrón radial que se extiende desde la parte más externa de un tallo o una raíz hacia su centro. Si examinamos la sección transversal de una raíz, por ejemplo, descubriremos tres anillos concéntricos de tejidos ordenados alrededor de un eje radial: una capa más externa de células epidérmicas (la epidermis) recubre un tejido cilíndrico de tejido cortical (córtex), que rodea a su vez al cilindro vascular (la endodermis, el periciclo, el floema y el xilema) (Figura 16.2) (véase el capítulo 1).

La **protodermis** es el meristemo a partir del cual se genera la epidermis, el **meristemo fundamental** produce el futuro córtex y la endodermis y el **procambium** es el meristemo que da lugar al tejido vascular primario y al cambium vascular.

El embrión de *Arabidopsis* pasa por cuatro etapas distintas de desarrollo

El patrón de embriogénesis de *Arabidopsis* ha sido ampliamente estudiado y es el que aquí se presenta, pero no hay que olvidar que las angiospermas pueden tener patrones de desarrollo diferentes y, por lo tanto, éste es sólo un tipo.

Las etapas más importantes de la embriogénesis en *Arabidopsis,* y en muchas otras angiospermas, son las siguientes:

1. ***El estado globular***. Después de la primera división del zigoto, la célula apical sufre una serie de divisiones, generando un embrión globular de ocho células (**octante**) unas 30 horas después de la fecundación (Figura 16.3C). Otras divisiones adicionales muy precisas aumentan el número de células en la esfera (Figura 16.3D).
2. ***El estado de corazón***. Este estado se forma por rápidas divisiones celulares en dos regiones en cada uno de los lados del futuro brote apical caulinar. Estas dos regiones producen las protuberancias que posteriormente darán lugar a los cotiledones, y a la simetría bilateral del embrión (Figura 16.3E y F).
3. ***El estado de torpedo***. Este estado es resultado de la elongación de las células a lo largo del eje embrionario y posterior desarrollo de los cotiledones (Figura 16.3G).
4. ***El estado de maduración***. Hacia el final de la embriogénesis, el embrión y la semilla pierden agua y se hacen metabólicamente quiescentes, a medida que entran en latencia (Figura 16.3H).

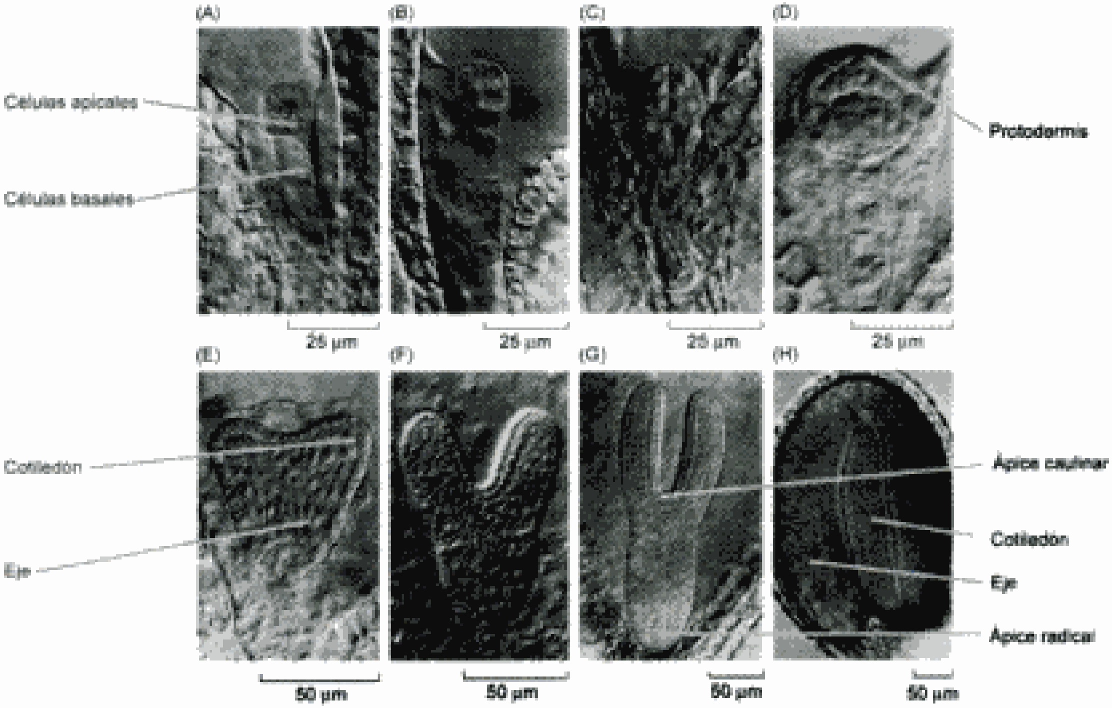


Figura 16.3 La embriogénesis de *Arabidopsis* se caracteriza por un patrón preciso de divisiones celulares. Aquí se muestran las sucesivas etapas de la embriogénesis. (A) Un embrión de una célula después de la primera división del zigoto, que forma las células apical y basal; (B) el embrión de dos células; (C) el embrión de ocho células; (D) el estado globular inicial, que ha desarrollado una protodermis distinguible (capa superficial); (E) estado corazón inicial; (F) estado corazón final; (G) estado torpedo; (H) embrión maduro. (Según West y Harada 1993, fotografías tomadas por K. Matsudaira Yee; cortesía de John Harada, © American Society of Plant Biologist, reimpresas con permiso.)

Los cotiledones son los órganos de reserva para muchas especies, y durante la fase de crecimiento de los cotiledones, se sintetizan y depositan en los cotiledones proteínas, almidón y lípidos para ser utilizados por la plántula durante el crecimiento heterotrófico (no fotosintético) que se produce después de la germinación. Aunque las reservas alimenticias en *Arabidopsis* se almacenan en los cotiledones, el crecimiento de los cotiledones en esta especie no es tan extensivo como en muchas otras dicotiledóneas. En monocotiledóneas, las reservas se almacenan principalmente en el endospermo. En *Arabidopsis* y en muchas otras muchas dicotiledóneas, el endospermo se desarrolla rápidamente al inicio de la embriogénesis pero es reabsorbido posteriormente, de forma que la semilla madura carece de tejido endospérmico.

El patrón axial del embrión se establece durante la primera división celular del zigoto

La polaridad axial se establece muy pronto en la embriogénesis (véase el **tema web 16.1**). De hecho, el zigoto en sí mismo está polarizado y se elonga unas tres

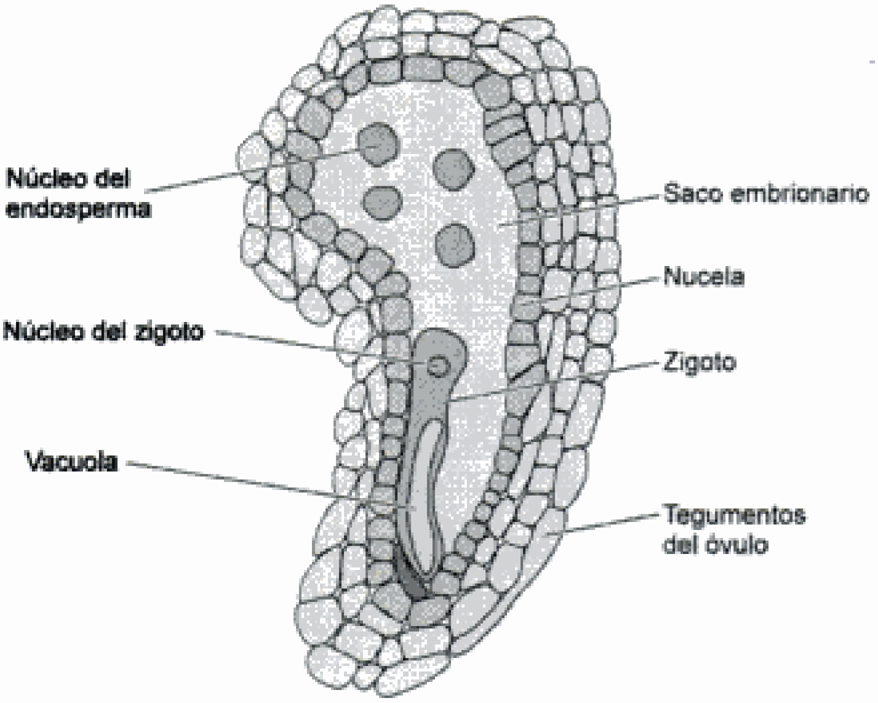


Figura 16.4 Un primordio seminal de *Arabidopsis* que contiene el saco embrionario 4 horas después de la doble fecundación. El zigoto muestra una marcada polarización. La mitad terminal del zigoto tiene un citoplasma denso y un único núcleo de gran tamaño, mientras que una gran vacuola central ocupa la mitad basal de la célula. En esta etapa, el saco embrionario que rodea al zigoto contiene también cuatro núcleos endospérmicos.

veces antes de la primera división. El extremo apical del zigoto posee un citoplasma denso, mientras que la mitad basal de la célula contiene una gran vacuola central (Figura 16.4).

La primera división del zigoto es asimétrica y se produce en ángulo recto al eje longitudinal. Esta división crea dos células, una apical y una basal, con destinos muy diferentes (véase la figura 16.3A). La célula hija más pequeña, la apical, recibe más citoplasma que la célula más grande, la basal, que hereda la gran vacuola del zigoto. Casi todas las estructuras del embrión, y en última instancia la planta madura, derivan de la pequeña célula apical. Dos divisiones verticales y una división horizontal de esta célula apical, generan el embrión globular de ocho células (octante) (véase la figura 16.3C).

La célula basal también se divide, pero todas las divisiones son horizontales, en ángulo recto al eje longitudinal. El resultado es un filamento de seis a nueve células conocido como el **suspensor** que ancla el embrión al sistema vascular de la planta. Sólo una de las células derivadas de la célula basal contribuye al embrión. La célula derivada más próxima al embrión se conoce como **hipófisis,** y forma la **columela**, o parte central de la cofia radical, y una parte esencial del meristemo radical apical conocida como **centro quiescente**, que se analizará más adelante en este capítulo (Figura 16.5).

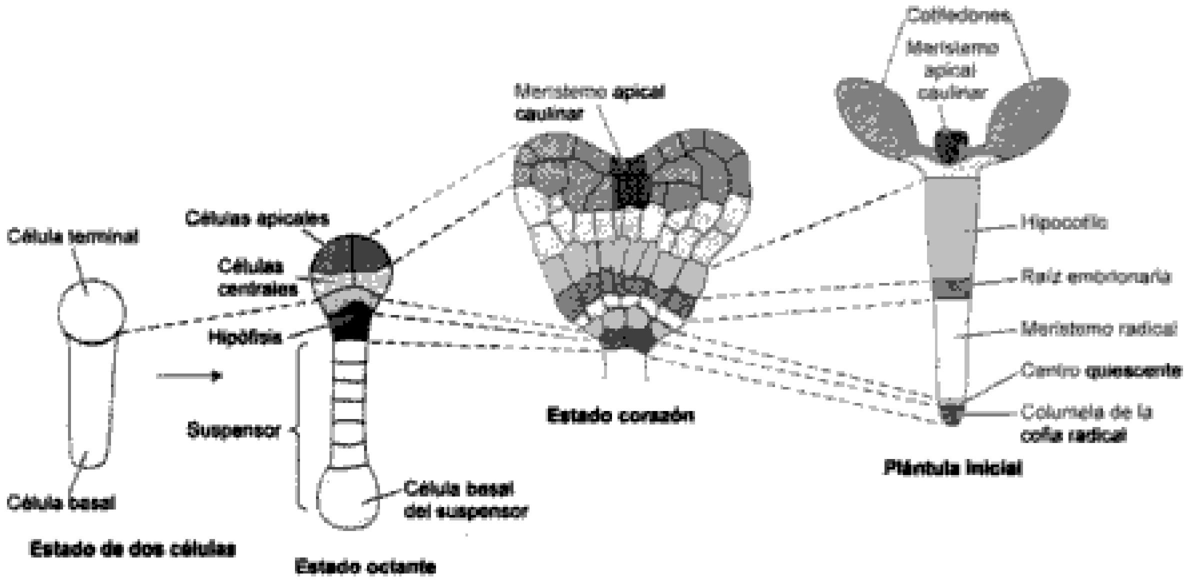

Cotiledones
Meristemo apical caulinar
Meristemo apical caulinar
Células apicales
Célula terminal
Células centrales
Hipófisis
Suspensor
Célula basal
Célula basal del suspensor
Estado de dos células
Estado octante
Estado corazón
Hipocotilo
Raíz embrionaria
Meristemo radical
Centro quiescente
Columela de la cofia radical
Plántula inicial

Figura 16.5 La organización apical-basal de los tejidos vegetales y órganos se establece al inicio de la embriogénesis. Los dibujos ilustran cómo una plántula de *Arabidopsis* se origina a partir de regiones específicas del embrión (Según Willemsen y col. 1998).

Aunque el embrión es esférico durante toda la etapa globular de la embriogénesis (véase la figura 16.3A-D), las células localizadas entre las mitades apical y basal de la esfera poseen diferentes identidades y funciones. A medida que el embrión continúa creciendo y alcanza el estado de corazón, la polaridad axial se distingue más claramente (véase la figura 16.5), y se pueden reconocer ya tres regiones axiales:

1. La *región apical* da lugar a los cotiledones y al meristemo apical del brote.
2. La *región media* da lugar al hipocotilo, la raíz y a la mayor parte del meristemo radical.
3. La *hipófisis* da lugar al resto del meristemo apical (véase la figura 16.5).

Las células de la capa superior e inferior en las primeras etapas del estado globular del embrión son diferentes, y el embrión se divide en las mitades apical y basal, reflejando el patrón axial impuesto por el zigoto en el embrión.

El patrón radial en la diferenciación de los tejidos se observa por primera vez en el estado globular

El patrón radial en la diferenciación de los tejidos se observa por primera vez en el embrión octante (Figura 16.6). A medida que continúan las divisiones celulares en el embrión globular, las divisiones transversales dividen la capa inferior de células radialmente en tres regiones. Estas tres regiones formarán los tejidos ordenados ra-

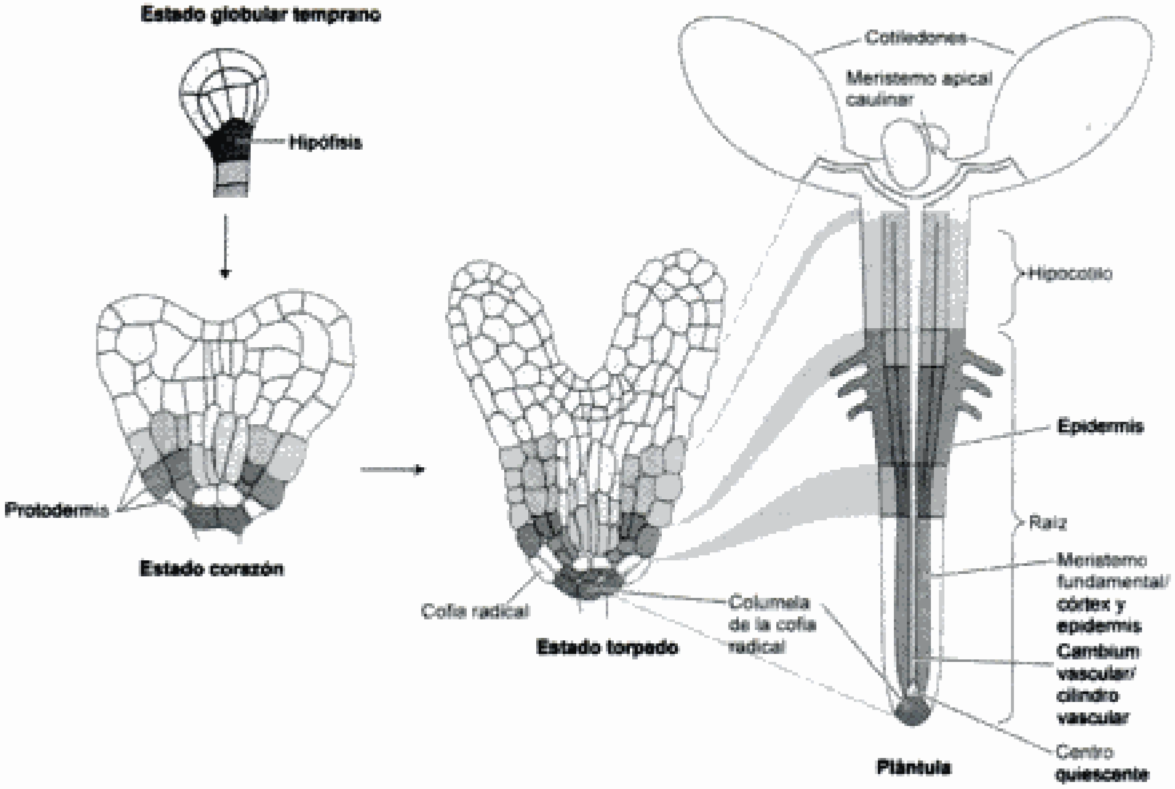

Estado globular temprano
Hipófisis
Protodermis
Estado corazón
Cofia radical
Estado torpedo
Columela de la cofia radical
Cotiledones
Meristemo apical caulinar
Hipocotilo
Epidermis
Raíz
Meristemo fundamental/ córtex y epidermis
Cambium vascular/ cilindro vascular
Centro quiescente
Plántula

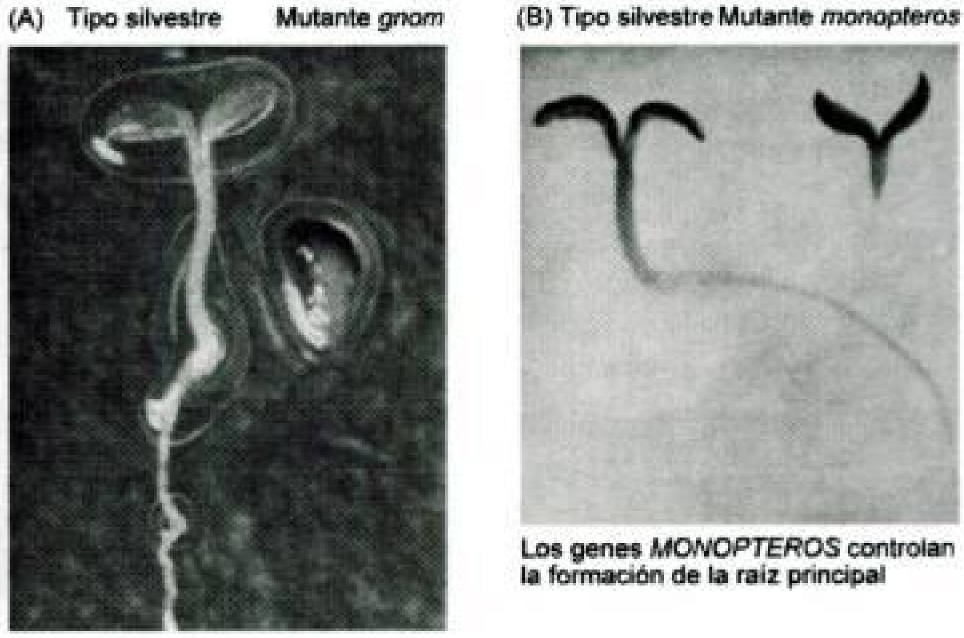
Figura 16.6 El patrón radial de los tejidos se establece también durante la embriogénesis. Estos diagramas ilustran el origen de los diferentes tejidos y órganos en las regiones embrionarias de la embriogénesis de *Arabidopsis*. Las líneas grises entre los estados torpedo y plántula indican las regiones del embrión que dan lugar a las diversas regiones de la plántula. Las regiones expandidas representan los límites en los que el destino del desarrollo es más flexible. (Según Van Der Berg y col. 1995.) (Véase esquema en color en el CD.)

dialmente de los ejes del tallo y la raíz. Las células más externas forman una capa unicelular superficial, conocida como **protodermis**. La protodermis cubre ambas mitades del embrión y generará la epidermis.

Las células que formarán el meristemo fundamental se sitúan por debajo de la protodermis. El meristemo fundamental dará lugar al **córtex,** y en la raíz e hipocotilo, también la **endodermis**. El procambium es la capa más interna, de células alargadas, que generará los **tejidos vasculares** y en la raíz, el **periciclo** (véase la figura 16.2).

La embriogénesis requiere la expresión de genes específicos

El análisis de mutantes de *Arabidopsis* que o bien no establecen la polaridad axial o se desarrollan anormalmente durante la embriogénesis ha permitido identificar genes cuya expresión participa en el establecimiento de los patrones de tejidos durante la embriogénesis



Los genes *MONOPTEROS* controlan la formación de la raíz principal

Los genes *GNOM* controlan la polaridad apical-basal

Figura 16.7 Se han identificado genes cuyas funciones son esenciales para la embriogénesis de *Arabidopsis* mediante la selección de mutantes en los que el estado embrionario está bloqueado, como en *gnom* y *monopteros*. Se contrasta el desarrollo de las plántulas mutantes con el del tipo silvestre en el mismo estado de desarrollo. (A) El gen *GNOM* establece la polaridad apical-basal. A la derecha se muestra una planta homocigota para *gnom*. (B) El gen *MONOPTEROS* es necesario para el patrón basal y la formación de la raíz primaria. Las plantas homocigotas para la mutación *monopteros* tienen un hipocotilo, un meristemo apical caulinar normal y cotiledones, pero carecen de la raíz principal. (A según Willemsen y col. 1998; B según Verte y Jürgens 1993.)

El gen GNOM: El patrón axial. Las plántulas homocigotas para las mutaciones en el gen *GNOM* carecen de raíces y cotiledones (Figura 16.7A) (Mayer y col. 1993). Los defectos en embriones *gnom* aparecen por primera vez durante la división inicial del zigoto, y persisten a lo largo de toda la embriogénesis. En los mutantes extremos, los embriones *gnom* son esféricos y carecen completamente de polaridad axial. Podemos concluir que la expresión del gen *GNOM* es necesaria para establecer la polaridad axial.[1]

***Los genes MONOPTEROS: Raíz principal y* tejido vascular.** Las mutaciones en los genes *MONOPTEROS (MP)* dan lugar a plántulas que carecen de hipocotilo y de raíz, aunque producen una región apical. En los embriones mutantes *mp* las estructuras apicales no son estructuralmente normales y los tejidos de los cotiledones están desorganizados (Figura 16.7B) (Berleth y Jürgens 1993). Los embriones de mutan-

---

[1] En los análisis genéticos de plantas y levaduras, los genes de tipo silvestre (normales) se escriben con letras mayúsculas y cursiva (en este caso, *GNOM*) y las mutaciones en letras minúsculas (aquí *gnom*).

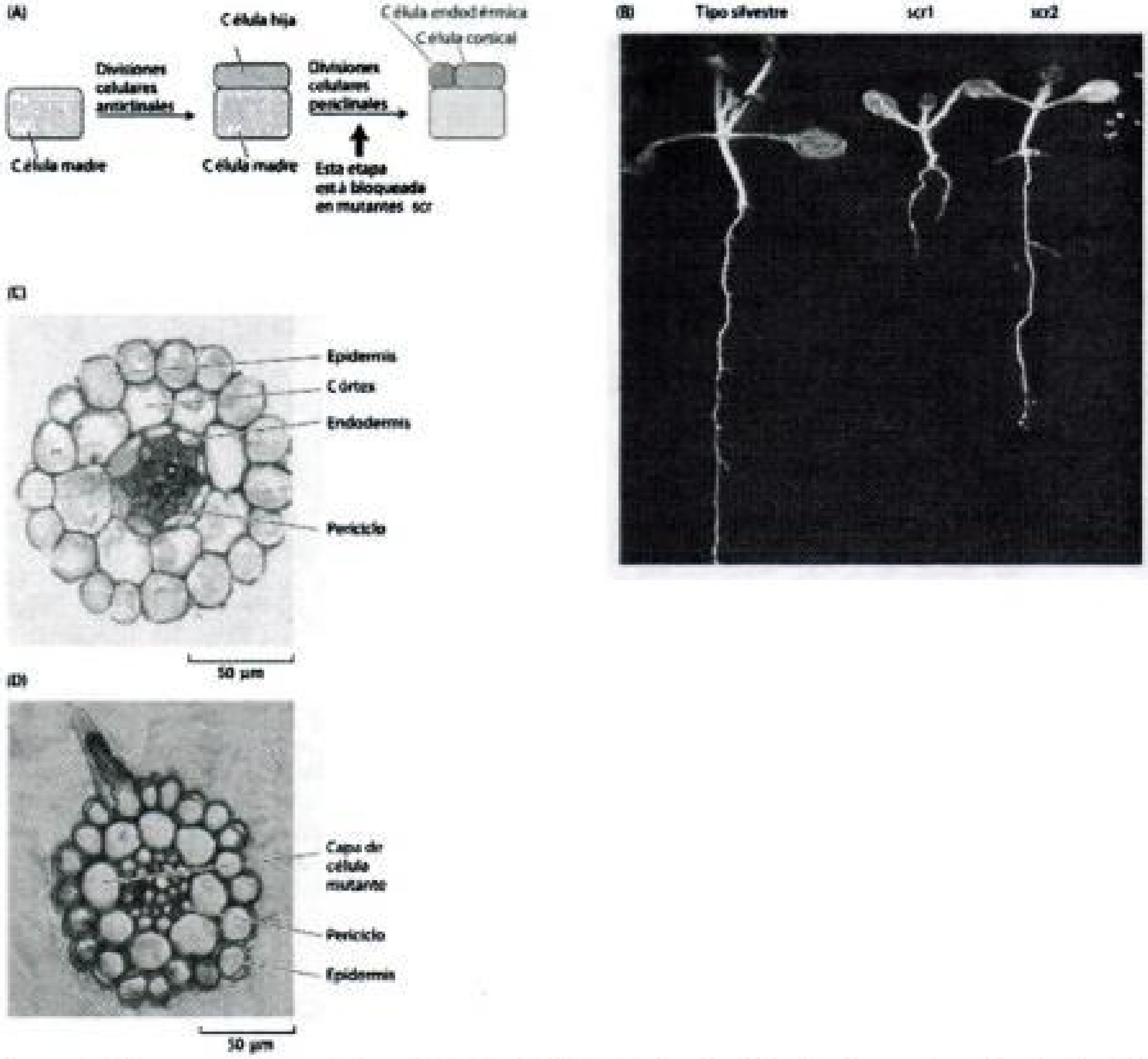

(A)
Célula hija
Célula endodérmica
Célula cortical
Divisiones celulares anticlinales
Divisiones celulares periclinales
Célula madre
Célula madre
Esta etapa está bloqueada en mutantes scr
(B)
Tipo silvestre
scr1
scr2
(C)
Epidermis
Córtex
Endodermis
Periciclo
50 µm
(D)
Capa de célula mutante
Periciclo
Epidermis
50 µm

Figura 16.8 Las mutaciones del gen *SCARECROW* (*SCR*) de *Arabidopsis* alteran el patrón tisular de la raíz. (A) Las divisiones celulares que forman la endodermis y el córtex. Las células endodérmicas y las células corticales derivan de las mismas células iniciales como resultado de dos divisiones celulares asimétricas. La célula madre cortical-endodérmica (célula no determinada) se expande y se divide anticlinalmente, reproduciéndose a sí misma y dando lugar a una célula hija. La célula hija entonces se divide periclinalmente para dar lugar a una pequeña célula de características endodérmicas y a una célula grande que formará una célula cortical. La segunda división asimétrica no se produce en los mutantes *scr*, y la célula hija formada como resultado de la división anticlinal de la célula madre tiene características de células corticales y endodérmicas. (B) Se compara el crecimiento de una plántula tipo silvestre de 12 días (izquierda) con una plántula homocigota mutante del gen *SCARECROW* (centro y derecha). (C) Sección transversal de la raíz principal de una plántula tipo silvestre. (D) Sección transversal de la raíz principal de una plántula homocigota para el mutante *scr*. (Según Di Laurenzio y col. 1996; fotos ©Cell Press, cortesía de P. Benfey.)

tes *mp* muestran anormalidades por primera vez en el estado octante y no forman el procambium en la parte inferior del embrión globular, la parte que daría lugar al hipocotilo y la raíz. Mas adelante se forma algo del tejido vascular en los cotiledones, pero las haces están inadecuadamente conectados.

Aunque los embriones de mutantes *mp* carecen de raíz principal cuando germinan, a medida que la plántula crece y se hace adulta forman raíces adventicias. Los tejidos vasculares en todos los órganos de estas plantas mutantes están poco desarrollados, con discontinuidades frecuentes. Así pues, los genes *MP* son necesarios para la formación de la raíz principal del embrión, pero no para la formación de la raíz en la planta adulta. El gen *MP* es importante para la formación del tejido vascular durante el desarrollo postembrionario (Przemeck 1996).

Los genes SHORT ROOT y SCARECROW: Desarrollo del tejido fundamental. Se han identificado genes que funcionan en el establecimiento del patrón radial de tejidos en la raíz y en el hipocotilo durante la embriogénesis. Estos genes se requieren igualmente para el mantenimiento del patrón radial durante el desarrollo postembrionario (Scheres y col. 1995; Di Laurenzio y col. 1996). Con el fin de identificar estos genes los investigadores han aislado mutantes de *Arabidopsis* que presentan un crecimiento lento de las raíces (Figura 16.8B). El análisis de estos mutantes permitió identificar algunos de ellos que tienen defectos en el patrón radial de tejido. Dos de los genes afectados *SHOOT ROOT (SHR*, del inglés *sh*oot *r*oot, *raíz corta)* y *SCARECROW (SCR*, del inglés *scar*ecrow, espantapájaros) son necesarios para la diferenciación de tejidos y la diferenciación celular, no sólo en el embrión, sino también en las raíces principales y secundarias y en el hipocotilo.

Los mutantes de SHR y SCR producen raíces con una capa unicelular de tejido fundamental (Figura 16.8D). En plantas con la mutación *scr*, las células que forman esta capa de tejido fundamental poseen una identidad mixta y muestran características tanto de células endodérmicas como corticales. Estos mutantes *scr* carecen también de la capa de células llamada **vaina de almidón**, estructura implicada en la respuesta del crecimiento a la gravedad (véase el capítulo 19). Las raíces de las plantas con la mutación *shr* también tienen una única capa de células de tejido fundamental, pero sólo con características de células corticales y no de endodermis.

EL gen HOBBIT: El meristemo radical. Los meristemos del brote y de la raíz principal se establecen durante la embriogénesis. Como en muchos casos no llegan a ser activos en esta etapa, puede ser más apropiado el término *promeristemo* para describir a estas estructuras. Un **promeristemo** se puede definir como una estructura embrionaria que llegará a convertirse en meristemo a partir la germinación.

No se ha identificado todavía un marcador del promeristemo radical, pero parece determinarse en las primeras etapas de la embriogénesis. Las células madre de la cofia radical (las células que darán lugar a la cofia radical por divisiones) se forman a partir de la hipófisis durante el estado de corazón de la embriogénesis, indicando que el promeristemo radical se establece al menos en este estado de la embriogéne-

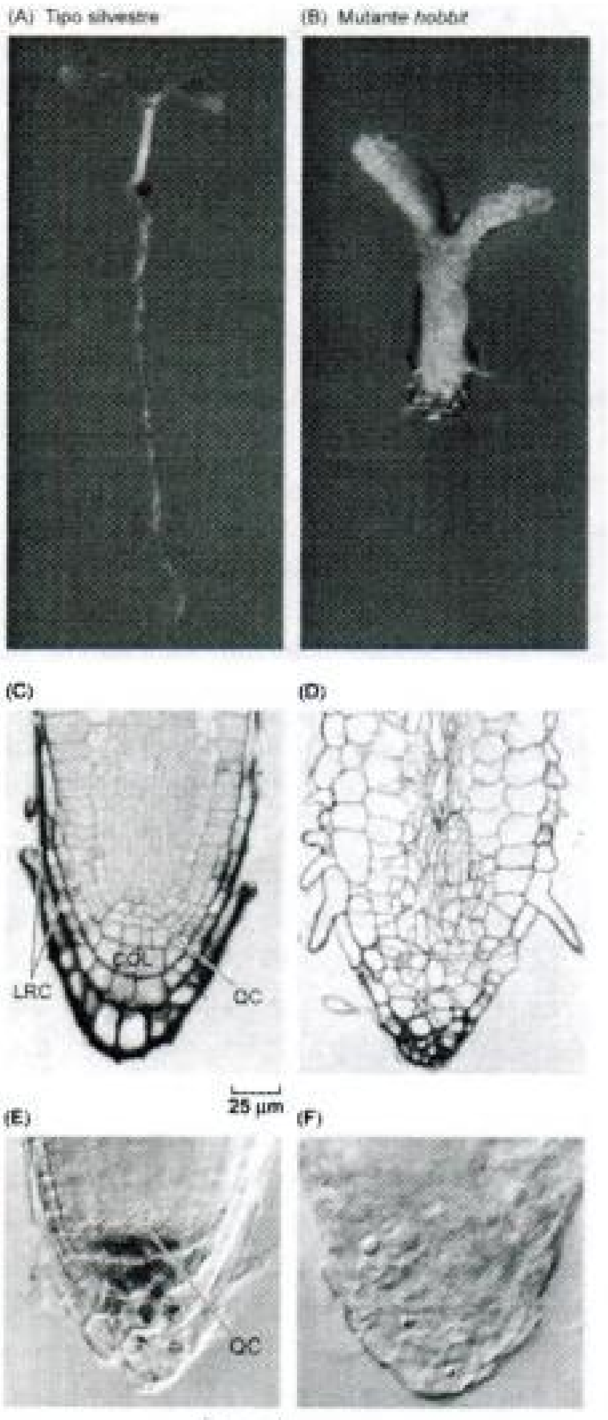


Figura 16.9 El gen *HOBBIT* (*HBT*) es importante para el desarrollo de un meristemo apical radical funcional. (A) Plántula tipo silvestre de *Arabidopsis*; (B) plántula de un mutante *hobbit*; (C) ápice radical de tipo silvestre mostrando el centro quiescente (QC), la columela (COL) y la cofia radical lateral (LRC); (D) ápice radical de un mutante *hobbit*; (E) centro quiescente y columela del tipo silvestre; (F) ausencia de centro quiescente y columela en *hobbit*. Las plántulas de A y B se tomaron 7 días después de la germinación (ampliada 4×). La tinción con yoduro revela los granos de almidón en las células de la columela de la cofia radical en el tipo silvestre (E). No hay granos de almidón en el ápice de la raíz del mutante *hobbit* (F). (Según Willemsen y col. 1998.)

sis (Figura 16.9). La expresión del gen *HOBBIT* puede ser un marcador precoz de la identidad del meristemo radical (Willemsen y col. 1998).

Los mutantes del gen *HOBBIT* (*HBT*) son deficientes en la formación de una raíz embrionaria funcional, al igual que las plantas mutantes *mp*. Sin embargo ambas mutaciones actúan de modo diferente. Los mutantes *hbt* empiezan a mostrar anormalidades en la etapa celular de dos a cuatro células, antes de la formación del embrión globular. El principal defecto de los mutante *hbt* se encuentra en el precursor de la hipófisis, que se divide verticalmente, en lugar de horizontalmente. En consecuencia, no se forma la hipófisis y el meristemo radical que se forma a continuación carece de centro quiescente y de columela (véase la figura 16.9F). Los embriones de los mutantes *hbt* parecen tener un meristemo radical, pero no es funcional cuando las plántulas germinan. Además, las plantas crecidas a partir de embriones mutantes *hbt* son incapaces de formar raíces laterales.

El gen SHOOTMERISTEMLESS: El promeristemo del brote. El promeristemo del brote se puede reconocer morfológicamente en el estado de torpedo de la embriogénesis en *Arabidopsis*. Las divisiones orientadas de algunas de las células que hay entre los cotiledones dan lugar a una estructura en capas de esta región, característica del meristemo apical del brote (como se describirá más adelante en este capítulo). No obstante, los progenitores de estas células probablemente adquieren la identidad molecular de las células del meristemo apical del brote mucho antes, durante el estado globular.

El gen *SHOOTMERISTEMLESS (STM*, del inglés *s*hoo*tm*eristemless, carente de meristemo caulinar*)* se expresa específicamente en las células que formarán el meristemo apical del brote y se requiere su expresión en estas células para la formación del promeristemo del brote. Las plantas de *Arabidopsis* homocigotas para la mutación con pérdida de función del gen STM no forman el meristemo apical caulinar, y en su lugar todas las células de esta región se diferencian (Lincoln y col. 1994). El producto del gen *STM* silvestre parece suprimir la diferenciación celular, asegurando que las células del meristemo permanezcan indiferenciadas.

EL mRNA de *STM* se puede detectar inicialmente en una o dos células en el extremo apical del embrión medioglobular. En el estado de corazón, la expresión *STM* queda restringida a unas pocas células de los cotiledones (Long y col. 1996). Como *STM* actúa como un marcador de estas células, el meristemo apical del brote debe ser especificado bastante antes de ser reconocido morfológicamente. El gen *STM* es necesario no sólo para la formación del meristemo apical del brote embrionario, sino para el mantenimiento de la identidad del meristemo apical caulinar en la planta adulta. La función del núcleo en el control del desarrollo se demostró por primera vez en el alga unicelular gigante, *Acetabularia* (véase el **ensayo web 16.2**).

La maduración del embrión requiere la expresión de genes específicos

El embrión de *Arabidopsis* entra en latencia una vez ha generado unas 20.000 células. La latencia se alcanza por pérdida de agua y por el cese de la transcripción de genes y síntesis de proteínas, no sólo en el embrión sino en toda la semilla. Para adaptar la célula a las condiciones especiales de latencia, se requiere la expresión de genes específicos. Por ejemplo, los genes *ABSCISIC ACID INSENSITIVE3* (*ABI3*, del inglés *ab*scisic acid *i*nsensitive 3, insensible al ácido abscísico) y *FUSCA3* se requieren para el inicio de la latencia y son sensibles a la hormona ácido abscísico, molécula señal que inicia la latencia de la semilla y del embrión. *ABI3* también controla la expresión de los genes que codifican las proteínas de reserva que se depositan en los cotiledones durante la fase de maduración de la embriogénesis (véase el capítulo 23).

El gen *LEAFY COTYLEDON1* (*LEC1*, del inglés *le*afy *c*otyledon *1*, cotiledón frondoso) también es activo en las últimas etapas de la embriogénesis. Como los mutantes *lec1* no pueden sobrevivir a la desecación y no entran en latencia, los embriones mueren a menos que se aíslen antes de la desecación. Los embriones aislados germinarán en cultivo y generarán plantas fértiles, iguales a las plantas del tipo silvestre excepto por la falta de proteína de reserva 7S y por tener los cotiledones tipo hojas con tricomas en la superficie superior.

La apariencia normal y el desarrollo de los mutantes *lec1* maduros indican que el gen LEC1 se necesita sólo durante la embriogénesis. Aunque los defectos más obvios de los mutantes *lec1* sólo son visibles en la fase de maduración del embrión, el mRNA resultante de la expresión del gen *LEC1* se puede detectar durante toda la embriogénesis. Se ha propuesto que el gen *LEC1* es un represor general del desarrollo vegetativo y su expresión es necesaria durante toda la embriogénesis (Lotan y col. 1998).

EL PAPEL DE LA CITOCINESIS EN EL PATRÓN DE FORMACIÓN

Una de las características más destacable de la organización tisular de muchas plantas, ilustrada por *Arabidopsis*, es el patrón preciso de divisiones orientadas, llamado con frecuencia *estereotipo*. Este patrón de división genera filas de células que se extienden desde el meristemo hacia la base de la planta. Aunque el patrón de división no es tan preciso en las demás especies, el patrón básico de formación de tejido es similar. ¿Qué importancia tiene el plano de división celular para establecer los patrones titulares en los órganos vegetales?

El patrón de división estereotípico no se requiere en los patrones axial y radial de diferenciación tisular

Los dos mutantes de *Arabidopsis*, *fass* y *ton*, tienen efectos extremos sobre los patrones de división celular en todos los estados del desarrollo y eliminan las divisiones estereotípicas que se observan en el tipo silvestre (Torres-Ruiz y Jürgens 1994; Traas y col. 1995). Estas mutaciones probablemente se producen en el mismo gen, y las células de las plantas homocigotas para la mutación ton (*«tonel»*) carecen de una estructura citoplásmica conocida como *banda preprofásica* de los microtúbulos. La banda preprofásica parece ser esencial para la orientación del fragmoplasto durante

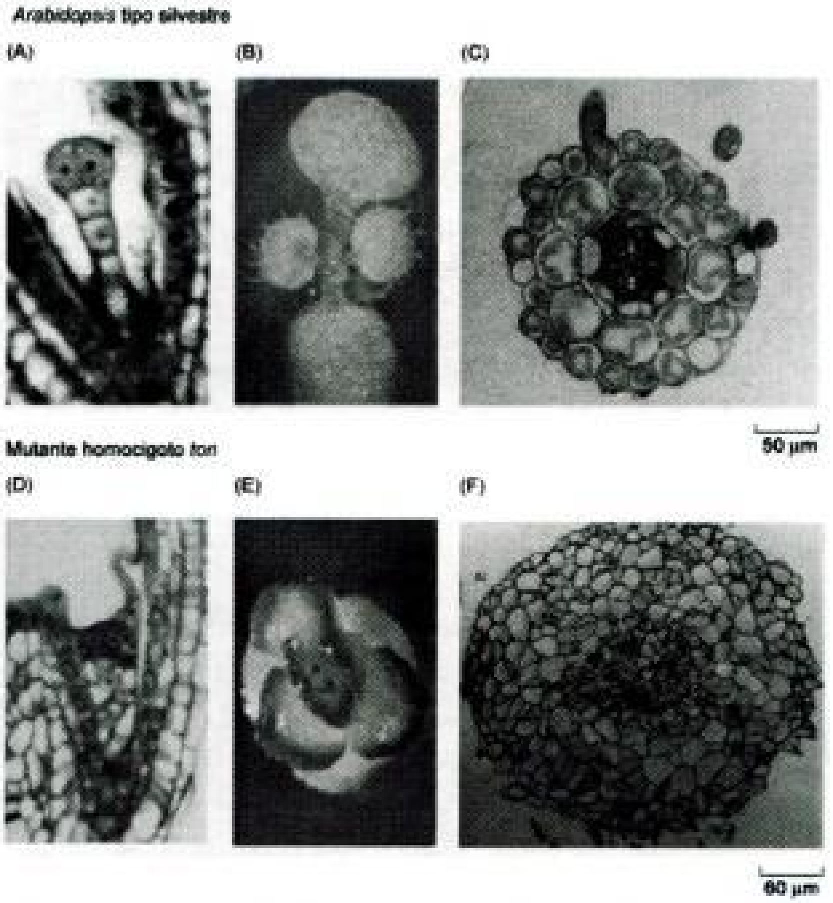


Figura 16.10 Las plantas de *Arabidopsis* con mutaciones en el gen *TON* son incapaces de formar la banda preprofásica de microtúbulos en células en cualquier estado de división. Las plantas con está mutación son muy irregulares en sus divisiones celulares y planos de expansión, de modo que son muy deformes. No obstante, continúan formando tejidos reconocibles y órganos en sus posiciones correctas. Aunque los órganos y tejidos producidos por estas plantas mutantes son muy anormales, el patrón radial de tejidos no se ve alterado. (A-C) *Arabidopsis* tipo silvestre: (A) embrión en estado globular inicial; (B) plántula vista desde arriba; (C) sección transversal de una raíz. (D-F) Estados comparativos de un *Arabidopsis* homocigoto mutante para la mutación *ton:* (D) inicio de embriogénesis; (E) plántula mutante vista desde arriba; (F) Sección transversal de la raíz del mutante, mostrando la orientación al azar de las células, pero con un orden parecido al del tipo silvestre; una capa epidérmica exterior recubre una capa multicelular del córtex, que a su vez rodea al cilindro vascular. (Según Traas y col. 1995.)

la citocinesis y se necesita para las divisiones celulares orientadas (véase el capítulo 1 y el **tema web 16.2**).

El efecto de la mutación *ton* se ha observado en las etapas iniciales de la embriogénesis y persiste durante todo el desarrollo. Las plantas son pequeñas, nunca alcanzan más de 2 ó 3 cm de altura. Tienen hojas, raíces y tallos deformes y son estériles (Figura 16.10D-F). Sin embargo, las plantas mutantes no sólo establecen un patrón axial, sino que tienen todos los tipos de células y órganos de la planta silvestre, y se encuentran en la posición adecuada. El número preciso de células encontradas en cada capa de tejido es radicalmente diferente en los mutantes, pero cada tejido está presente en el orden apropiado.

El hecho de que estos mutantes no impidan el establecimiento del patrón radial de tejido es una prueba evidente de que el patrón de división celular estereotípica que se encuentra en el embrión de *Arabidopsis* y en la raíz no es esencial para el patrón radial de diferenciación tisular.

Un mutante de *Arabidopsis* con una citocinesis defectuosa no puede establecer el patrón radial tisular

El mutante de *Arabidopsis knolle* tiene un defecto en la citocinesis, la etapa final de la mitosis en la que se forma una nueva pared separando los núcleos hijo en dos células diferentes. El gen *KNOLLE* codifica una proteína similar a la sintaxina que es importante en la fusión de vesículas. Las **sintaxinas** son proteínas que se integran en las membranas, permitiendo su fusión. La fusión de vesículas es esencial en la citocinesis (Figura 16.11).

Aunque la división celular no está bloqueada por la mutación *knolle*, la formación de la placa celular es irregular y con frecuencia incompleta. A causa de ello, muchas células son binucleadas, mientras que otras están parcialmente separadas o conectadas por grandes puentes citoplásmicos. Los planos de división también son irregulares. Estas irregularidades tienen efectos importantes sobre el desarrollo.

Las plantas homocigotas para la mutación *knolle* realizan la embriogénesis, aunque el patrón radial de tejidos está seriamente dañado y no se forma la capa de epidermis en las etapas iniciales de la embriogénesis. La mutación *knolle* no evita la formación del eje apical-basal y se completa la embriogénesis, aunque las plántulas tienen una vida corta y mueren poco después de la germinación. Las plantas carecen de meristemos funcionales.

La conclusión que se deriva de los estudios con mutantes *knolle* parece contradecir lo aprendido con las mutaciones *ton*. Tanto las mutaciones *knolle* como las *ton* tienen alteradas el patrón normal de división celular en el desarrollo embrionario y postembrionario. Pero mientras que las mutaciones *knolle* bloquean el establecimiento del patrón radial tisular, en los mutantes *ton* si que se establece dicho patrón.

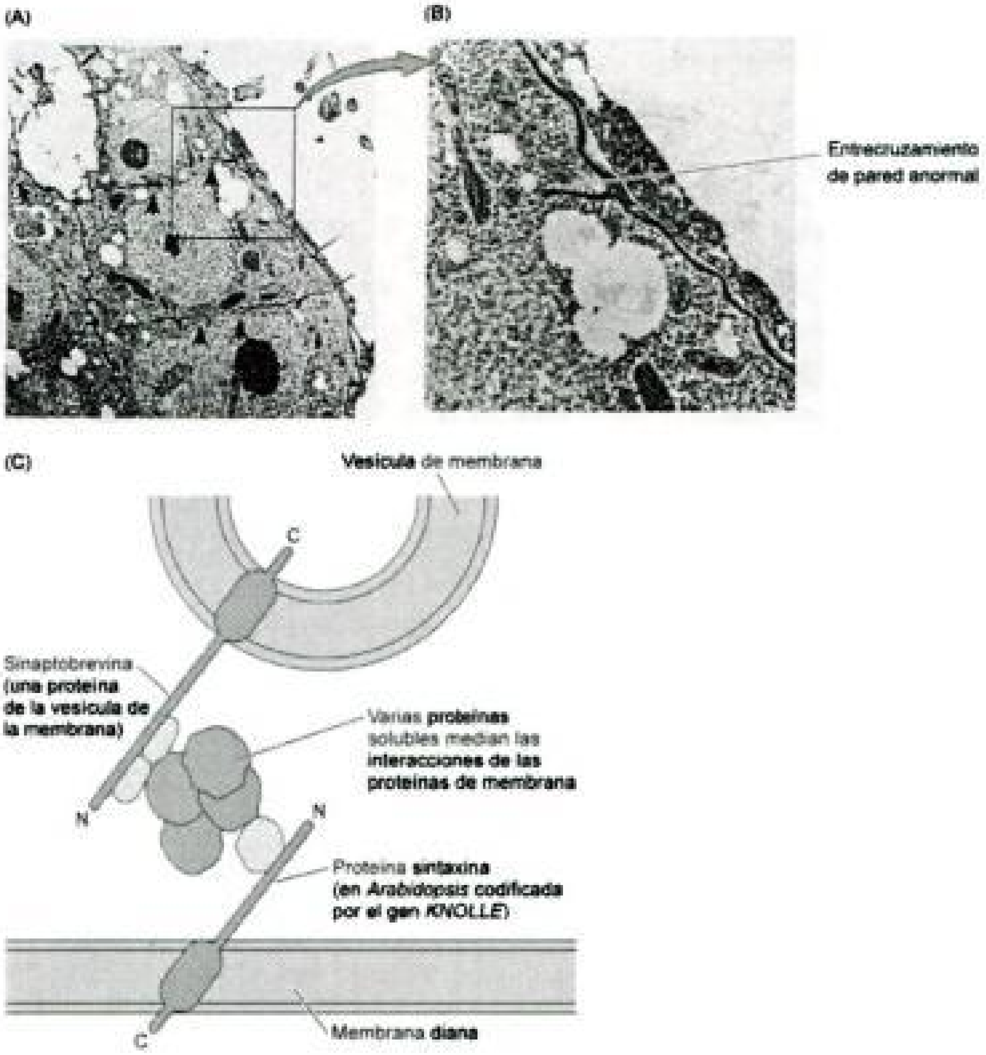

(A)
(B)
Entrecruzamiento de pared anormal
(C)
Vesícula de membrana
C
Sinaptobrevina (una proteína de la vesícula de la membrana)
Varias proteínas solubles median las interacciones de las proteínas de membrana
N
N
Proteína sintaxina (en *Arabidopsis* codificada por el gen *KNOLLE*)
Membrana diana
C

Figura 16.11 La proteína sintaxina, codificada por el gen *KNOLLE*, juega un papel crucial en la fusión de las membranas derivadas del Golgi, y es requerida en la citocinesis normal de la mayoría de organismos, incluida *Arabidopsis*. (A) Micrografía electrónica de una región de un embrión de *Arabidopsis* con la mutación *knolle*. El recuadro mide 5 mm de ancho. (B) Fotomicrografía muy ampliada que muestra una sección transversal anormal de la pared anclada a la pared celular materna. (C) Modelo de fusión de vesículas durante la formación de la placa celular. Un complejo de proteínas solubles media la interacción de la proteína sinaptobrevina con la proteína sintaxina (codificada por el gen *KNOLLE*) sobre la membrana diana. (A y B según Lukowitz y col. 1996, cortesía de G. Jürgens; C según Assaad y col. 1996.)

Una diferencia entre las mutaciones *ton* y *knolle* es que éstas últimas impiden la separación efectiva de las células hijas durante la citocinesis debido a que la placa celular es incompleta. Como la comunicación célula a célula es importante para el patrón de formación, puede que sea necesario para las células que estén aisladas efectivamente de manera que pueda regularse el intercambio de información. A pesar de que el citosol es continuo entre células vegetales adyacentes a través de los plasmodesmos, se necesita la formación completa de las células para el desarrollo normal. Así, los mutantes *ton* son capaces de percibir la información posicional correctamente, mientras que los mutantes *knolle* no. Para una revisión de los mecanismos que determinan el plano de división celular en la célula vegetal, véase el **ensayo web 16.3**.

LOS MERISTEMOS EN EL DESARROLLO VEGETAL

Los **meristemos** son grupos de pequeñas células isodiamétricas (que tienen las mismas dimensiones en todos los lados) con características embrionarias. Los meristemos vegetativos se autoperpetúan No sólo producen los tejidos que formarán el cuerpo de raíz o tallo, sino que se autoregeneran contínuamente. Un meristemo puede retener su carácter embrionario indefinidamente, probablemente durante miles de años en el caso de árboles. Esta capacidad es debida a que algunas células meristemáticas no quedan determinadas a diferenciarse, y retienen su capacidad para la división celular, en cuanto los meristemos permanecen vegetativos.

Las células indiferenciadas que retienen la capacidad para dividirse indefinidamente se denominan **células madre**. Aunque históricamente se las llamó *células iniciales* en las plantas, en cuanto a función son muy similares, si no idénticas a las células madre animales (Weigel y Jürgens 2002). Cuando las células madre se dividen, una de las células hija retiene la identidad de la célula madre, mientras que la otra se diferencia y sigue una ruta de desarrollo concreta (Figura 16.12).

Las células madre suelen dividirse lentamente. Las células hijas, sin embargo, pueden entrar en un período de divisiones celulares rápidas antes de que cesen las divisiones y puedan reconocerse como tipos de células específicas. Las células madre representan la última fuente de todas las células del meristemo, y del resto de la planta, raíces, hojas y otros órganos, incluidos tallos.

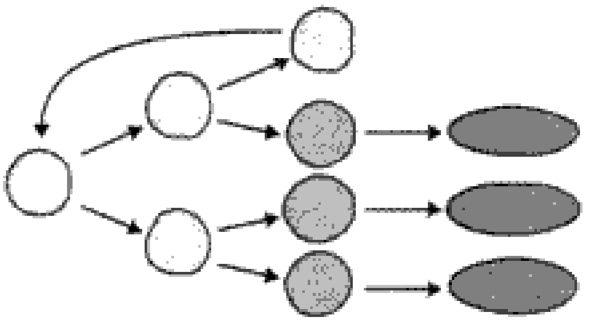


Figura 16.12 Las células madre generan células hijas, algunas de las cuales permanecen no determinadas y mantienen las propiedades de las células madre, mientras las demás se determinan y llegan a diferenciarse.

El meristemo apical caulinar es una estructura muy dinámica

El meristemo apical caulinar vegetativo genera el tallo y los órganos laterales unidos al tallo (hojas y yemas laterales). El meristemo apical caulinar o del brote típicamente suele estar formado por unos pocos cientos a miles de células, aunque el meristemo apical caulinar de *Arabidopsis* tiene sólo 60 células.

El meristemo apical caulinar está localizado en la zona distal del brote, pero está rodeado y cubierto por primordios foliares. Estas son las hojas más jóvenes producidas por el meristemo. Es útil distinguir el ápice caulinar del meristemo propiamente dicho. El **ápice caulinar** consta de un meristemo apical y de los primordios foliares. El **meristemo apical caulinar** consta sólo de la población de células indiferenciadas, y no incluye cualquiera de los órganos derivados de él.

El meristemo apical caulinar es una región llana o ligeramente abultada, de 100 a 300 μm de diámetro, formada por células pequeñas de paredes finas, con citoplasma denso y que carecen de vacuola central. El meristemo apical caulinar es una estructura dinámica que cambia durante todo el ciclo de formación de la hoja y del tallo. Además, en algunas plantas presenta actividad estacional, al igual que el resto del brote. Los meristemos apicales del brote pueden crecer rápidamente en la primavera, entrar en un período de crecimiento lento en verano y entrar en latencia en otoño, y continuar así todo el invierno. El tamaño y estructura del meristemo apical caulinar también cambia con la actividad estacional.

Los brotes se desarrollan y crecen a partir de sus ápices, como en el caso de las raíces, aunque las regiones que se desarrollan no están tan estratificadas y precisamente ordenadas como en las raíces. Más aún, el crecimiento se produce en una amplia región del brote, a diferencia de los que ocurre en las raíces. En un momento dado, una región que contenga varios entrenudos, normalmente de 10 a 15 cm de longitud, puede estar experimentando crecimiento primario.

El meristemo apical caulinar contiene diferentes zonas y capas funcionales

El meristemo apical caulinar consta de diferentes regiones funcionales que pueden distinguirse por la orientación de los planos de división celular, y por el tamaño y actividad celular. El meristemo apical caulinar vegetativo de las angiospermas normalmente tiene una apariencia estratificada, con tres capas de células diferentes. Estas capas se designan como **L1**, **L2** y **L3**, donde L1 es la capa más externa (Figura 16.13). Las divisiones celulares son anticlinales en las capas L1 y L2; es decir, la nueva pared celular que separa las células hijas está orientada ortogonalmente a la superficie del meristemo. Las divisiones celulares tienden a ser menos reguladas en su orien-

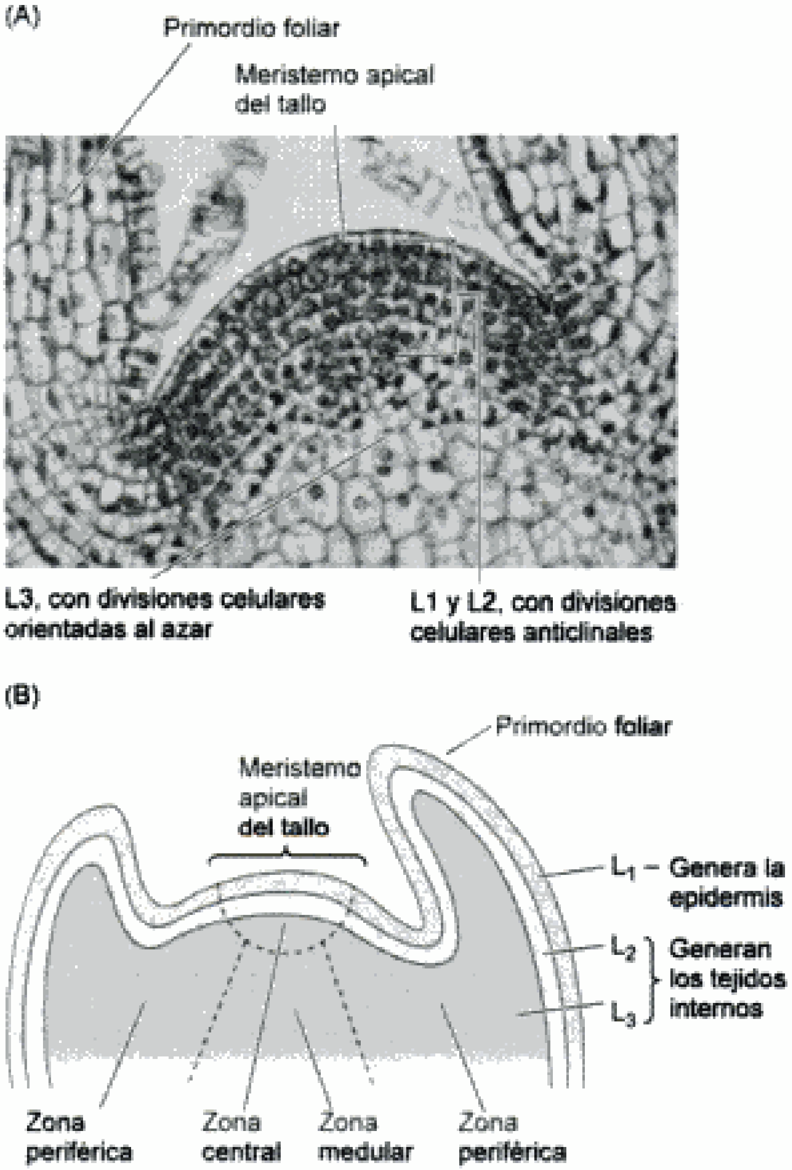

(A)
Primordio foliar
Meristemo apical del tallo
L3, con divisiones celulares orientadas al azar
L1 y L2, con divisiones celulares anticlinales
(B)
Primordio foliar
Meristemo apical del tallo
L_1 – Genera la epidermis
L_2
L_3
Generan los tejidos internos
Zona periférica
Zona central
Zona medular
Zona periférica

Figura 16.13 El meristemo apical del brote genera los órganos aéreos de la planta. (A) Esta sección longitudinal a través del centro del ápice del brote de *Coleus blumei* muestra la estructura de capas del meristemo apical caulinar. La mayor parte de las divisiones son anticlinales en las capas L1 y L2, mientras que los planos de división celular están orientados más al azar en la capa L3. La capa más externa (L1) genera la epidermis del brote; las capas L2 y L3 generan los tejidos internos. (B) El meristemo apical del brote también tiene zonas citohistológicas, que representan regiones con diferentes identidades y funciones. La zona central contiene las células madre, que se dividen lentamente, pero que son la fuente última de los tejidos que forman el cuerpo vegetal. La zona periférica, en la que las células se dividen rápidamente, rodea la zona central y produce los primordios foliares. Una zona de medular limita por debajo la zona central y genera los tejidos de la parte central del tallo. (A© J. N. Lott/Biological Photo Service.)

tación en la capa L3. Cada capa tiene sus propias células madre y las tres capas contribuyen a la formación del tallo y de los órganos laterales.

Los meristemos apicales activos también tienen un patrón de organización conocido como **distribución citohistológica**. Cada zona está formada por células que se pueden distinguir no sólo en base a su plano de división, sino también por diferencias en el tamaño y grado de vacuolización (véase la figura 16.13B). Estas zonas muestran diferentes patrones de expresión génica, lo que refleja las diferentes funciones de cada zona (Nishimura y col. 1999; Fletcher y Meyerowitz 2000).

El centro de un meristemo activo contiene un grupo de células relativamente grandes, altamente vacuolizadas, llamada **zona central**. La zona central es comparable al centro quiescente del meristemo radical (que se analizará más adelante en este capítulo). Una región con forma anular de células más pequeñas, llamada **zona periférica**, flanquea la zona central. Una **zona medular** se encuentra por debajo de la zona central y dará lugar a los tejidos internos del tallo.

Estas diferentes zonas probablemente representan diferentes dominios de desarrollo. La zona periférica es la región en la que las primeras divisiones celulares dan lugar a la formación de primordios foliares. La zona medular aporta las células que formarán el tallo. La zona central contiene las células madre: una parte permanece sin diferenciar, mientras que otra proporcionará el recambio celular para las poblaciones de las zonas medular y periférica (Bowman y Eshed 2000).

Algunos meristemos se forman durante el desarrollo postembrionario

Los meristemos apicales de la raíz y del brote formados durante la embriogénesis se denominan **meristemos primarios**. Tras la germinación, la actividad de estos meristemos primarios genera los tejidos y órganos primarios que constituyen el cuerpo primario de la planta.

La mayoría de las plantas también desarrollan **meristemos secundarios** durante el desarrollo postembrionario. Los meristemos secundarios tienen una estructura similar a los meristemos primarios, aunque algunos meristemos secundarios tienen estructuras bastante diferentes. Entre ellos se incluyen los meristemos axilares, los meristemos de inflorescencias y los meristemos laterales (el cambium vascular y el cambium suberógeno). (Los meristemos de inflorescencia y florales se analizarán en el capítulo 24):

- Los **meristemos axilares** se forman en las axilas de las hojas y derivan del meristemo apical del brote. El crecimiento y desarrollo de los meristemos axilares produce ramificaciones del eje principal de la planta.
- Los **meristemos intercalares** se encuentran dentro de los órganos, con frecuencia cerca de su base. Los meristemos intercalares de las hojas y tallos de herbáceas les permiten continuar su crecimiento a pesar de ser ingeridas por herbívoros.
- Los **meristemos laterales de las raíces** tienen una estructura similar al meristemo principal de la raíz, pero se forman a partir de células del periciclo en las

regiones maduras de la raíz. Las raíces adventicias también se pueden producir a partir de los meristemos laterales de la raíz que se desarrollan en los tallos, como cuando se enraízan esquejes para propagar una planta.

- El **cambium vascular** es un meristemo secundario que se forma junto al tejido vascular primario a partir del procambium en el cilindro vascular. No produce órganos laterales, pero sí todos los tejidos leñosos de tallos y raíces. El cambium vascular contiene dos tipos de células meristemáticas: las células madre fusiformes y las células madre radiales. Las *células madre fusiformes* son células muy largas con numerosas vacuolas que se dividen longitudinalmente para autoregenerarse y de las que se diferencian las células conductoras del xilema y el floema secundario. Las *células madre radiales* son células pequeñas de las que derivan las filas de células parénquimáticas orientadas radialmente en la madera, conocidas como radios.
- El **cambium suberógeno** forma una capa meristemática que se desarrolla en las células maduras del córtex y en el floema secundario. Las células derivadas del cambium suberógeno se diferenciarán como las células corticales que crean la capa protectora secundaria denominada *peridermis* o *corcho*. La peridermis forma la capa protectora exterior del cuerpo secundario vegetal, reemplazando a la epidermis en los tallos y raíces leñosas.

Los meristemos axilar, floral y de inflorescencia caulinares son variantes del meristemo vegetativo

Se pueden distinguir varias clases de meristemos del brote en base a su origen de desarrollo, los tipos de órganos laterales que generan, y si presentan un **crecimiento determinado** (que tienen un programa genético que limita su crecimiento) o **indeterminado** (no muestran una limitación a su crecimiento; el crecimiento dura mientras los recursos lo permitan).

El meristemo apical caulinar normalmente es indeterminado en su desarrollo. Forma fitómeros de forma repetitiva mientras las condiciones ambientales lo permitan, pero no genera un estímulo de floración. Un **fitómero** es una unidad de desarrollo repetitiva que consta de una o más hojas, el nudo al que se unen las hojas, el entrenudo debajo del nudo, y una o más yemas axilares (Figura 16.14). Las **yemas axilares** son meristemos secundarios; si son también meristemos vegetativos, tendrán una estructura y potencial de desarrollo similar al del meristemo apical.

Los meristemos vegetativos pueden convertirse en meristemos florales cuando se induce la planta a florecer (véase el capítulo 24). Los **meristemos florales** difieren de los meristemos vegetativos en que en lugar de hojas producen órganos florales: sépalos, pétalos, estambres y carpelos. Además, los meristemos florales son determi-

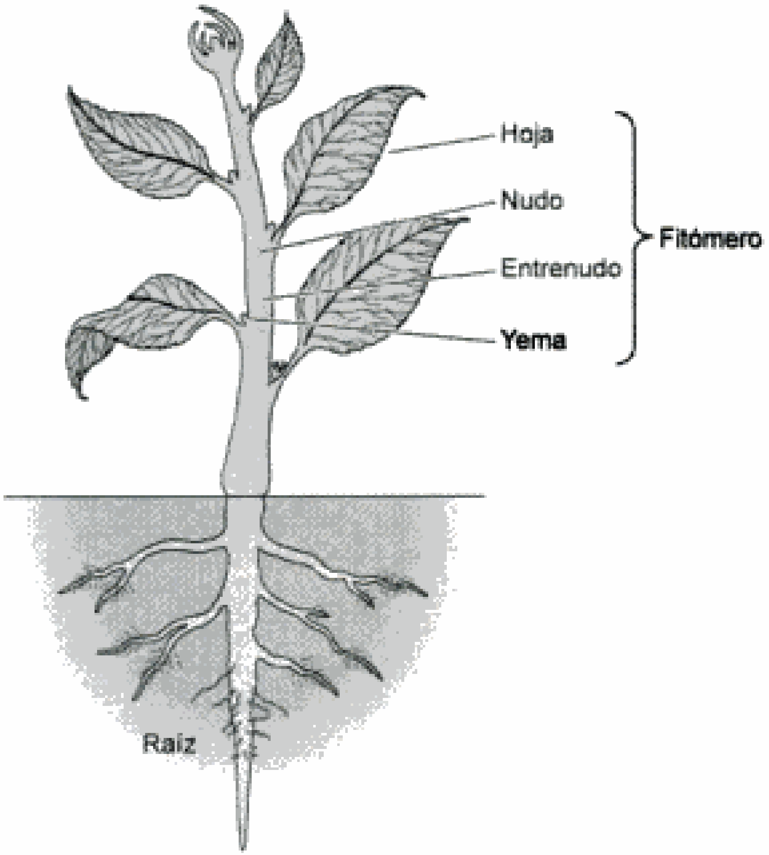


Figura 16.14 El meristemo apical caulinar genera de forma repetitiva unidades conocidas como fitómeros. Cada fitómero consta de una o más hojas, el nudo por el que las hojas están ancladas, el entrenudo justo debajo de las hojas y una o más yemas en las axilas de las hojas.

nados: Toda la actividad meristemática se detiene una vez se ha completado la formación de todos los órganos florales.

En muchos casos, los meristemos vegetativos no se convierten directamente en meristemos florales. En su lugar, los meristemos vegetativos se transforman primero en meristemos de inflorescencia. Los tipos de órganos laterales producidos por un meristemo de inflorescencia son diferentes de los producidos por un meristemo floral. El meristemo de inflorescencia produce brácteas, y meristemos florales en las axilas de las brácteas, en lugar de los sépalos, pétalos, estambres y carpelos producidos por el meristemo floral. Los meristemos de inflorescencia pueden ser determinados o indeterminados, dependiendo de las especies.

DESARROLLO DE LA HOJA

Las hojas de la mayoría de las plantas son los órganos de la fotosíntesis. Es donde se captura la energía luminosa, que se usa para impulsar las reacciones químicas vitales para la vida de la planta. Aunque las hojas son muy variables en forma y tamaño dependiendo de las especies, en general son estructuras finas y planas con polaridad dorsiventral. Este patrón contrasta con el del meristemo apical del brote y de los tallos, ambos con simetría radial. Otra diferencia importante consiste en que el primordio foliar muestra un crecimiento determinado, mientras que el del meristemo apical caulinar es indeterminado. Como se describe en las secciones siguientes, en el desarrollo de una hoja se pueden reconocer varias etapas (Sinha 1999).

Estado 1: Organogénesis. Un pequeño número de células de las capas L1 y L2 en los flancos del domo apical del meristemo apical caulinar adquieren la identidad de la **célula fundadora de la hoja**. Estas células se dividen más rápidamente que las células que las rodean y producen protuberancias que representan los primordios foliares (Figura 16.15A). Estos primordios posteriormente crecerán y se desarrollarán en hojas.

Estado 2: Desarrollo de los dominios de los suborgános. Diferentes regiones del primordio adquieren la identidad de partes específicas de la hoja. Dicha diferenciación tiene lugar a lo largo de tres ejes: **dorsiventral** (abaxial-adaxial), **proximodistal** (apical-basal) y **lateral** (margen-lámina-nervio central) (Figura 16.15B). La cara superior (adaxial) de la hoja está especializada en la absorción de la luz; la superficie inferior (abaxial) está especializada en el intercambio gaseoso. La estructura de la hoja y las tasas de maduración también varían a lo largo de los ejes proximodistal y lateral.

Estado 3: Diferenciación celular y tisular. A medida que la hoja se desarrolla, las células y los tejidos se diferencian. Las células derivadas de la capa L1 se diferencian como epidermis (células epidérmicas, tricomas y células guarda), las derivadas de la capa L2 se diferencian en las células fotosintéticas del mesofilo y los elementos vas-

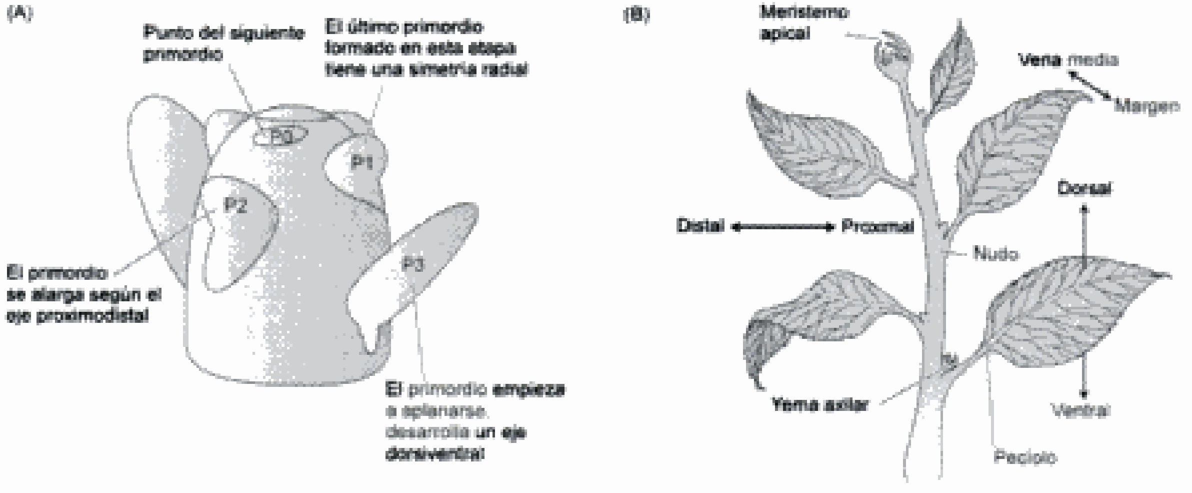

(A)
Punto del siguiente primordio
El último primordio formado en esta etapa tiene una simetría radial
P0
P1
P2
P3
El primordio se alarga según el eje proximodistal
El primordio empieza a aplanarse, desarrolla un eje dorsiventral
(B)
Meristemo apical
Vena media
Margen
Dorsal
Distal
Proximal
Nudo
Yema axilar
Ventral
Pecíolo

Figura 16.15 El origen de las hojas en el ápice del brote y sus ejes de simetría en el tallo. (A) Los primordios foliares flanqueando el meristemo apical del brote. (B) Diagrama de un brote mostrando los diversos ejes asociados al desarrollo. (Según Christensen y Weigel 1998.)

culares y las células de la vaina del haz derivan de la capa de células L3. Estas células se diferencian según un patrón determinado genéticamente que es característico de las especies, pero que de alguna manera se modifica en respuesta al medio ambiente.

La disposición de los primordio foliares está programada genéticamente

El momento y patrón con el que el primordio se forma está genéticamente determinado y es característico de cada especie. El número y orden en el que los primordios foliares se forman se refleja en la posterior disposición de las hojas alrededor del tallo, conocida como **filotaxis** (Figura 16.10). Hay cinco tipos principales de filotaxis:

1. ***Filotaxis alterna***. Se inicia una sola hoja en cada nudo (véase la figura 16.16A).
2. ***Filotaxis opuesta***. Las hojas se forman por pares en lados opuestos del tallo (Véase la figura 16.16B).
3. ***Filotaxis decusada***. Las hojas se inician siguiendo un patrón según el cual hay dos hojas opuestas por nudo y los sucesivos pares de hojas están orientados en ángulo recto uno a otro durante el desarrollo vegetativo (Figura 16.16C).
4. ***Filotaxis verticilada***. A partir de cada nudo se generan más de dos hojas (véase la figura 16.16D).
5. ***Filotaxis en espiral***. Un tipo de filotaxis alterna en el que cada hoja se inicia con un ángulo definido respecto a la hoja anterior, dando lugar a un ordenamiento en espiral a lo largo del tallo (véase la figura 16.16E).

La posición de los primordios foliares es producto de una regulación espacial precisa de crecimiento en el ápice. Se conoce poco acerca de cómo se regula dicha po-

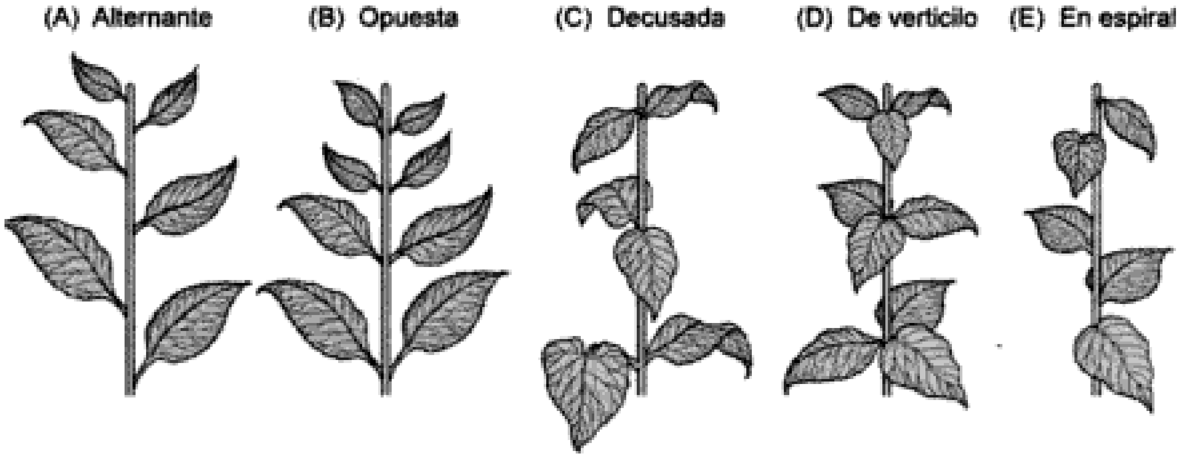


Figura 16.16 Cinco tipos de reordenamiento de las hojas (patrones filotácticos) a lo largo del eje del brote. Se usan los mismos términos en inflorescencias y flores.

sición o sobre las señales que inician la formación de un primordio. Una idea es que los campos inhibidores generados por los primordios preexistentes influyen en el posicionamiento del siguiente primordio.

DESARROLLO DE LA RAÍZ

Las raíces se han adaptado para crecer a través del suelo y absorber el agua y los nutrientes minerales de los espacios capilares entre las partículas del suelo. Estas funciones han determinado la evolución en la estructura de la raíz. Por ejemplo, apéndices laterales interferirían en su penetración a través del suelo. El meristemo apical no produce órganos laterales de forma que las raíces tienen un eje con características aerodinámicas. Las raíces ramificadas se producen en su interior y sólo se forman en regiones maduras que no están en crecimiento. La absorción de agua y minerales se ve mejorada por los frágiles pelos radicales, que también se forman sobre la zona de crecimiento. Estas células alargadas aumentan mucho la superficie de absorción radical.

En esta sección analizaremos el origen de la forma y estructura (*morfogénesis de la raíz* de la raíz), empezando por una descripción de las cuatro zonas de desarrollo en el extremo de la raíz. Más adelante retomaremos el estudio del meristemo apical. La ausencia de hojas o yemas hace que las hileras de células sean más fáciles de seguir en raíces que en brotes, facilitando así los estudios de genética molecular sobre el papel de los patrones de división celular en el desarrollo de la raíz.

El ápice radical tiene cuatro zonas de desarrollo

Las raíces crecen y se desarrollan desde sus extremos distales. Aunque los límites no están claros, se suelen distinguir cuatro zonas en el ápice radical: la cofia radical, la zona meristemática, la zona de elongación y la zona de maduración (Figura 16.17). En la raíz de *Arabidopsis* estas cuatro zonas ocupan poco más de un milímetro del extremo de la raíz. La región de desarrollo es mucho mayor en otras especies, pero el crecimiento queda confinado al extremo de la raíz. Sin embargo, a excepción de la cofia, los límites entre las otras zonas se solapan considerablemente

- La **cofia** (o caliptra) protege al meristemo apical de los daños mecánicos que pueda sufrir a medida que la raíz se va abriendo camino en el suelo. Las células de la cofia se forman a partir de células madre especializadas. A medida que las células madre producen nuevas células, las más viejas son desplazadas progresivamente hacia el extremo, donde finalmente se desprenden. Cuando las

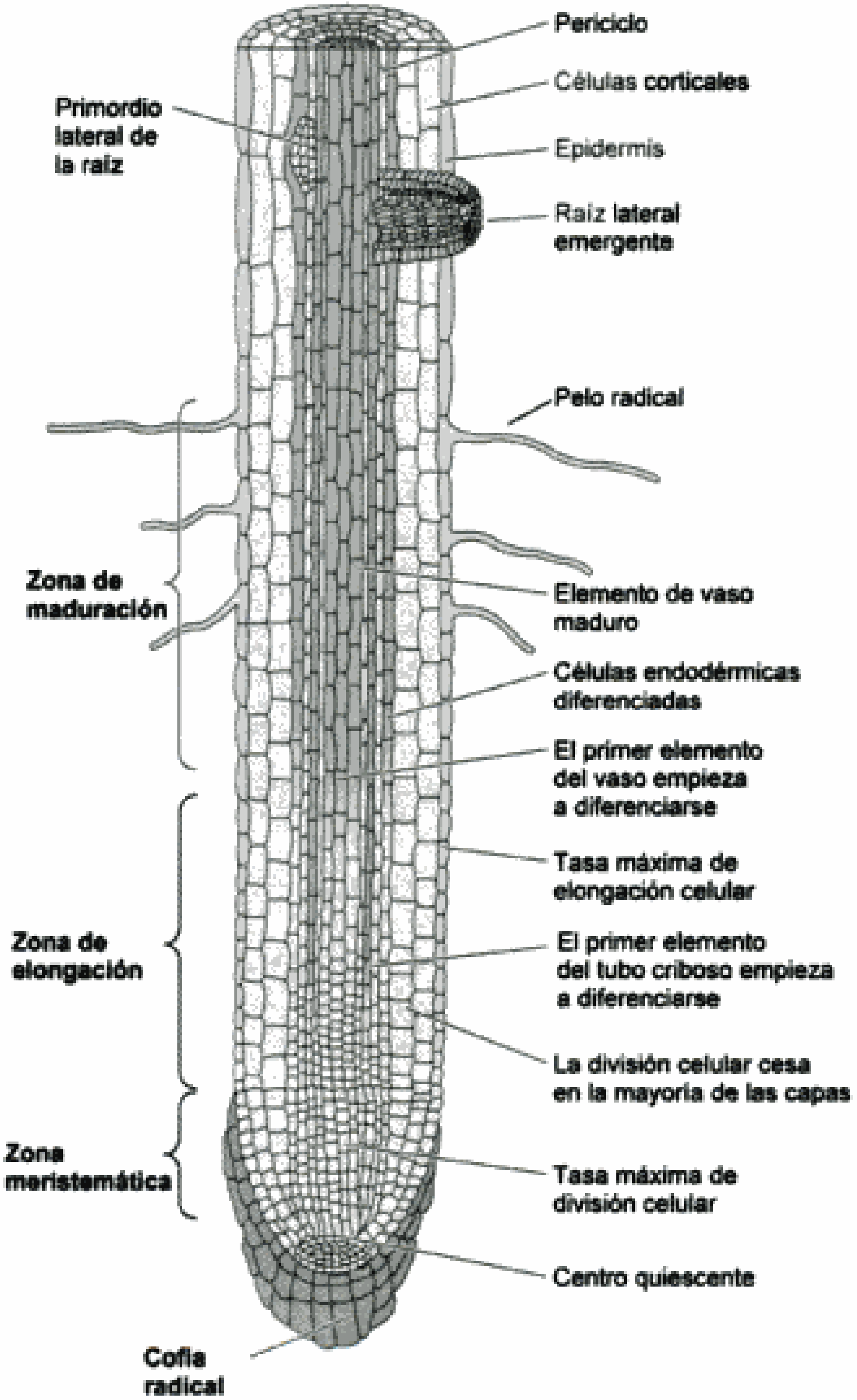

Periciclo
Células corticales
Primordio lateral de la raíz
Epidermis
Raíz lateral emergente
Pelo radical
Zona de maduración
Elemento de vaso maduro
Células endodérmicas diferenciadas
El primer elemento del vaso empieza a diferenciarse
Tasa máxima de elongación celular
Zona de elongación
El primer elemento del tubo criboso empieza a diferenciarse
La división celular cesa en la mayoría de las capas
Zona meristemática
Tasa máxima de división celular
Centro quiescente
Cofia radical

Figura 16.17. Diagrama simplificado de una raíz principal, mostrando la cofia radical, la zona meristemática, la zona de elongación y la zona de maduración. Las células en la zona meristemática tienen pequeñas vacuolas y se expanden y dividen rápidamente, generando muchas filas de células.

células de la cofia radical se diferencian adquieren la capacidad de percibir los estímulos de la gravedad y secretar mucopolisacáridos (mucílago) que ayudan a la raíz a penetrar en el suelo.

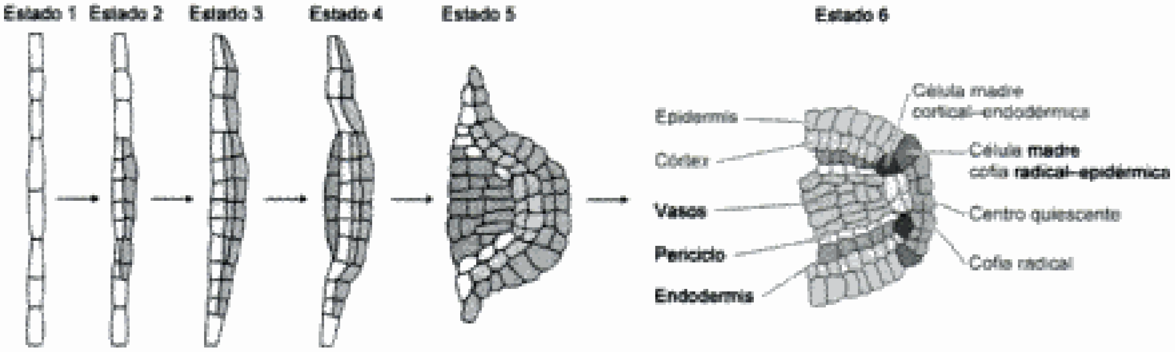


Figura 16.18 Modelo de formación de raíces laterales en *Arabidopsis*. Se muestran los seis estados fundamentales en el desarrollo del primordio. Los diferentes tipos de tejidos están señalados con colores. En el estado 6, todos los tejidos que se encuentran en la raíz principal están presentes en el patrón radial típico de la raíz lateral. (Según Malamy y Benfey 1997.) (Véase esquema en color en el CD)

- La **zona meristemática** se localiza justo por debajo de la cofia y, en *Arabidopsis*, tiene una longitud de 0,25 mm. El meristemo radical forma un único órgano, la raíz principal. No forma apéndices laterales.
- La **zona de elongación**, como su propio nombre implica, es la zona de alargamiento celular rápido y extensivo celular. Aunque algunas células pueden continuar dividiéndose mientras se alargan en esta zona, la tasa de división disminuye progresivamente hasta anularse a medida que aumenta la distancia al meristemo.
- La **zona de maduración** es la región en la que las células adquieren sus características en diferenciación. Las células entran en la zona de maduración una vez han cesado la división y la elongación. La diferenciación se puede iniciar mucho antes, pero las células no alcanzan el estado maduro hasta que llegan a esta zona. El patrón radial de tejidos diferenciados se hace evidente en la zona de maduración. Más adelante en este capítulo examinaremos la diferenciación y la maduración de uno de estos tipos de células, los elementos traqueales.

Como analizamos anteriormente, las raíces laterales proceden del periciclo en la región madura de la raíz. Las divisiones celulares que se producen en el periciclo establecen los meristemos secundarios que crecen a través del córtex y la epidermis, estableciendo un nuevo eje de crecimiento (Figura 16.18). Los meristemos radicales primarios y secundarios dan lugar a las células que originan todas las células de la raíz.

Las células madre de la raíz generan hileras longitudinales de células

Los meristemos son poblaciones de células en división, pero no todas las células de la región meristemática se dividen al mismo tiempo o con la misma frecuencia.

Normalmente, las células centrales se dividen mucho más lentamente que las periféricas. Estas células que raramente se dividen forman el centro quiescente del meristemo radical (Figura 16.17).

Estas células son más sensibles a la radiación ionizante cuando se están dividiendo. Esta es la base del uso de la radiación para tratar el cáncer en humanos. Como consecuencia, las células que se dividen rápidamente en el meristemo mueren a dosis de radiación que permiten sobrevivir a células como las del centro quiescente, que se dividen muy lentamente o no se dividen. Esta capacidad sugiere que las células del centro quiescente son importantes para establecer el patrón de formación de la raíz.

La característica estructural más importante del ápice de la raíz, vista en sección longitudinal, es la presencia de largas hileras de células clonales. La mayoría de las divisiones celulares en el ápice de la raíz son transversales, o **anticlinales**, con el plano de la citocinesis orientado en ángulo recto al eje de la raíz (estas divisiones tienden a aumentar la longitud de la raíz). Hay relativamente pocas divisiones **periclinales**, en las que el plano de división es paralelo al eje radical (estas divisiones tienden a aumentar el diámetro de la raíz).

Las divisiones periclinales se producen mayoritariamente cerca del ápice de la raíz y establecen nuevas hileras de células. Como consecuencia, el origen último de una célula madura en particular se puede establecer en una o pocas células del meristemo. Estas son las células madre de una hilera determinada. En *Arabidopsis*, las células madre rodean al centro quiescente, pero no forman parte del mismo. Las células madre, en última instancia, deben derivar del centro quiescente, pero este origen debe tener lugar durante la embriogénesis, dado que las células del centro quiescente no se dividen después de la germinación durante el desarrollo normal. El análisis de los patrones de división celular en las raíces de *Azolla* ha permitido tener una información más detallada de la función del meristemo. (Para un análisis de este trabajo, véase el **tema web 16.3**).

Los meristemos apicales radicales contienen varias tipos de células madre

Los patrones de organización celular que se encuentran en los meristemos de las raíces de las plantas con semillas son sustancialmente diferentes de los que se encuentran en las plantas vasculares primitivas. Todas las plantas con semillas tienen varias células madre, en lugar de la única célula madre encontrada en plantas como en *Azolla*. No obstante, son similares a *Azolla* en cuanto es posible seguir las hileras de células desde la región de maduración al meristemo y, en algunos casos, identificar la célula madre a partir de la cual se deriva la hilera.

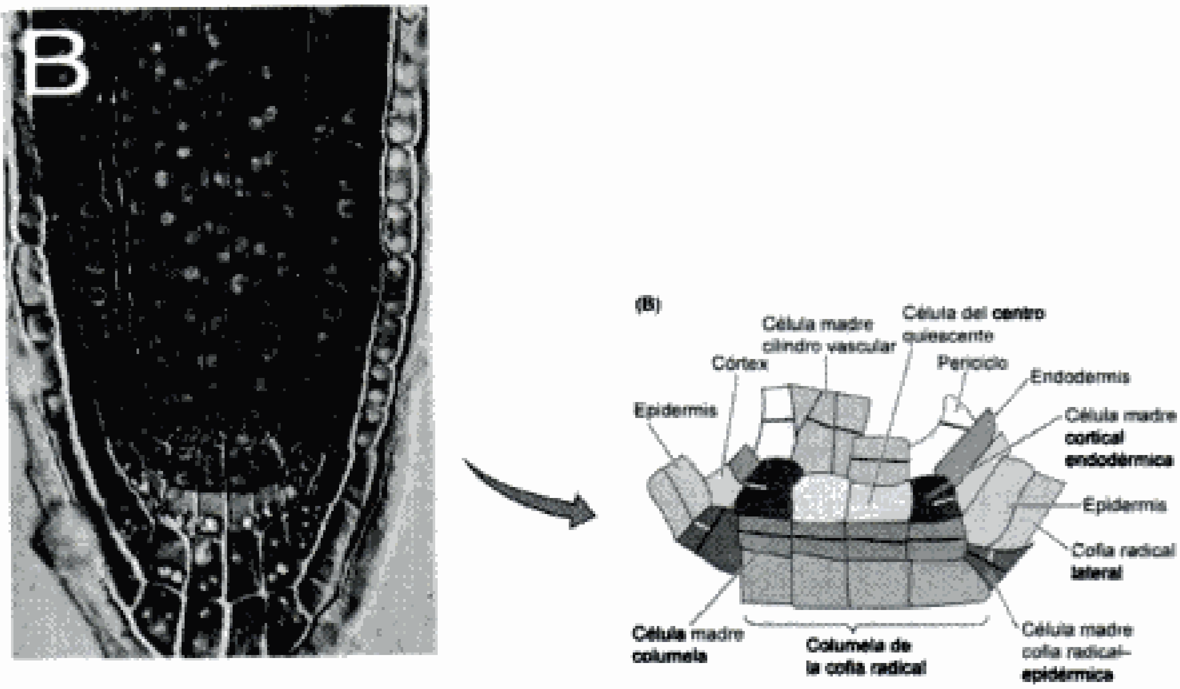

B
(B)
Célula madre cilindro vascular
Célula del centro quiescente
Córtex
Periciclo
Endodermis
Epidermis
Célula madre cortical endodérmica
Epidermis
Cofia radical lateral
Célula madre columela
Columela de la cofia radical
Célula madre cofia radical-epidérmica

Figura 16.19 Todos los tejidos de la raíz de *Arabidopsis* derivan de un pequeño número de células madre en el meristemo apical radical. (A) Sección longitudinal del centro de una raíz. El promeristemo que contiene las células madre que dan lugar a todos los tejidos está perfilado en color verde. (B) Diagrama de la región del promeristemo destacada en A. Sólo dos de las cuatro células del centro quiescente se muestran en esta sección. Las líneas negras indican los planos de división que se producen en las células madre. Las líneas blancas indican las divisiones secundarias que se producen en las células madre corticales-epidérmicas y de la cofia radical lateral-epidérmicas. (Según Schiefelbein y col. 1997, cortesía de J. Schiefelbein, ©American Society Plant Biologists, reimpreso con permiso.) (Véase el diagrama en color en el CD.)

En *Arabidopsis* el meristemo apical radical tiene la siguiente estructura (Figura 16.19):

- El **centro quiescente** formado por un grupo de cuatro células, también conocido como células centrales en el meristemo radical de *Arabidopsis*. Las células del centro quiescente en las raíces de *Arabidopsis* generalmente no se dividen después de la embriogénesis.
- Las **células madre corticales-endodérmicas** forman un anillo de células alrededor del centro quiescente. Estas células madre generan las capas cortical y endodérmica. Sufren una división anticlinal (o sea, perpendicular al eje longitudinal); entonces las células hijas se dividen periclinalmente (es decir, paralelas al eje longitudinal) para establecer las capas que darán lugar al córtex y a la endodermis, cada una de las cuales constituye una capa de células monoestratificada en la raíz de *Arabidopsis* (véanse también las figuras 16.2 y 16.8C).
- Las **células madre de la columela** son las células inmediatamente superiores (apicales a) las células centrales. Se dividen anticlinal y periclinalmente para generar un sector de la raíz conocido como la columela.

- Las **células madre de la cofia-epidermis** están en la misma fila que las células madre de la columela, pero forman un anillo alrededor de ellas. Las divisiones anticlinales de las células madre de la cofia-epidermis generan la capa celular epidérmica. Las divisiones periclinales de las mismas células, seguidas de divisiones anticlinales de las células derivadas, producirá la cofia lateral.
- Las **células madre del cilindro vascular** están constituidas por una fila de células justo detrás de las células del centro quiescente. Estas células generan el periciclo y los tejidos vasculares.

Las células madre, junto con las células inmediatamente derivadas en el meristemo apical, se denominan *promeristemo*.

DIFERENCIACIÓN CELULAR

La **diferenciación** es el proceso por el cual una célula adquiere propiedades metabólicas, estructurales y funcionales distintas a las de sus progenitores celulares. En las plantas, a diferencia de lo que ocurre en los animales, la diferenciación es frecuentemente reversible, sobre todo, cuando las células diferenciadas se aíslan de la planta y se colocan en un medio de cultivo de tejidos. En estas condiciones, la células se desdiferencian (o sea, pierden sus características diferenciadas), reinician la división celular y, en algunos casos, cuando se les proporciona los nutrientes y hormonas apropiados, incluso regeneran la planta entera.

Esta posibilidad de desdiferenciarse demuestra que las células vegetales diferenciadas retienen toda la información genética necesaria para el desarrollo de una planta completa, una propiedad que se conoce como **totipotencia**. La única excepción a esta regla son las células que pierden su núcleo, como los elementos de los tubos cribosos del floema, y las células muertas en estado de madurez, como los elementos de los vasos y las traqueidas (colectivamente llamadas elementos traqueales) en el xilema.

Como un ejemplo del proceso de diferenciación, analizaremos la formación de los elementos traqueales. El desarrollo de estas células desde el estado meristemático al estado completamente diferenciado ilustra los tipos de control que las plantas ejercen sobre la especialización celular y proporciona un ejemplo de los cambios celulares que tienen lugar durante el proceso de diferenciación (Fukuda 1996).

Se forma una pared celular secundaria durante la diferenciación de los elementos traqueales

Como se describió en el capítulo 4, los elementos traqueales son las células conductoras por las cuales se mueven el agua y los solutos a través de toda la planta. Están

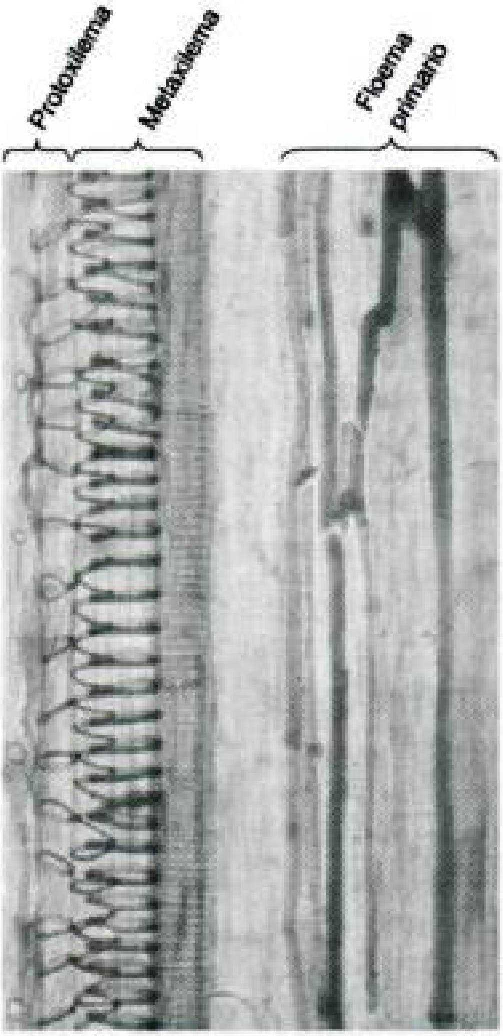


Figura 16.20 La formación del xilema primario y del floema primario en un haz en desarrollo de un entrenudo joven de pepino (*Cucumis sativus*). El patrón de deposición de la pared secundaria durante el desarrollo de los elementos de los vasos varía según la tasa de elongación celular. Los dos primeros vasos que se diferencian, el protoxilema, se muestran a la izquierda con engrosamientos de la pared celular en «anillos». Debido a que los primeros vasos formados han sido estirados por el crecimiento de los entrenudos, los anillos se han separado entre sí. Los vasos del metaxilema se diferencian tras el protoxilema y se caracterizan por un engrosamiento en espiral. Los vasos de metaxilema inicialmente diferenciados poseen un engrosamiento helicoidal estirado debido a la elongación celular, mientras que los vasos formados posteriormente muestran engrosamientos helicoidales densos que no se han extendido por elongación. Los tubos cribosos del floema primario se muestran a la derecha, con elementos cribosos típicos. Sus placas cribosas están teñidas de azul débil, mientras que los citoplasmas se tiñen de azul oscuro. (Cortesía de R. Aloni.)

muertas en madurez, aunque antes de morir son células muy activas, que construyen una pared celular secundaria, generalmente con un patrón complejo, y que pueden crecer extensamente. La muerte celular (analizada más adelante en este capítulo) es el final genéticamente programado de la diferenciación del elemento traqueal.

Durante la diferenciación del elemento traqueal, la formación de las paredes secundarias implica la deposición de microfibrillas de celulosa y otros polisacáridos no

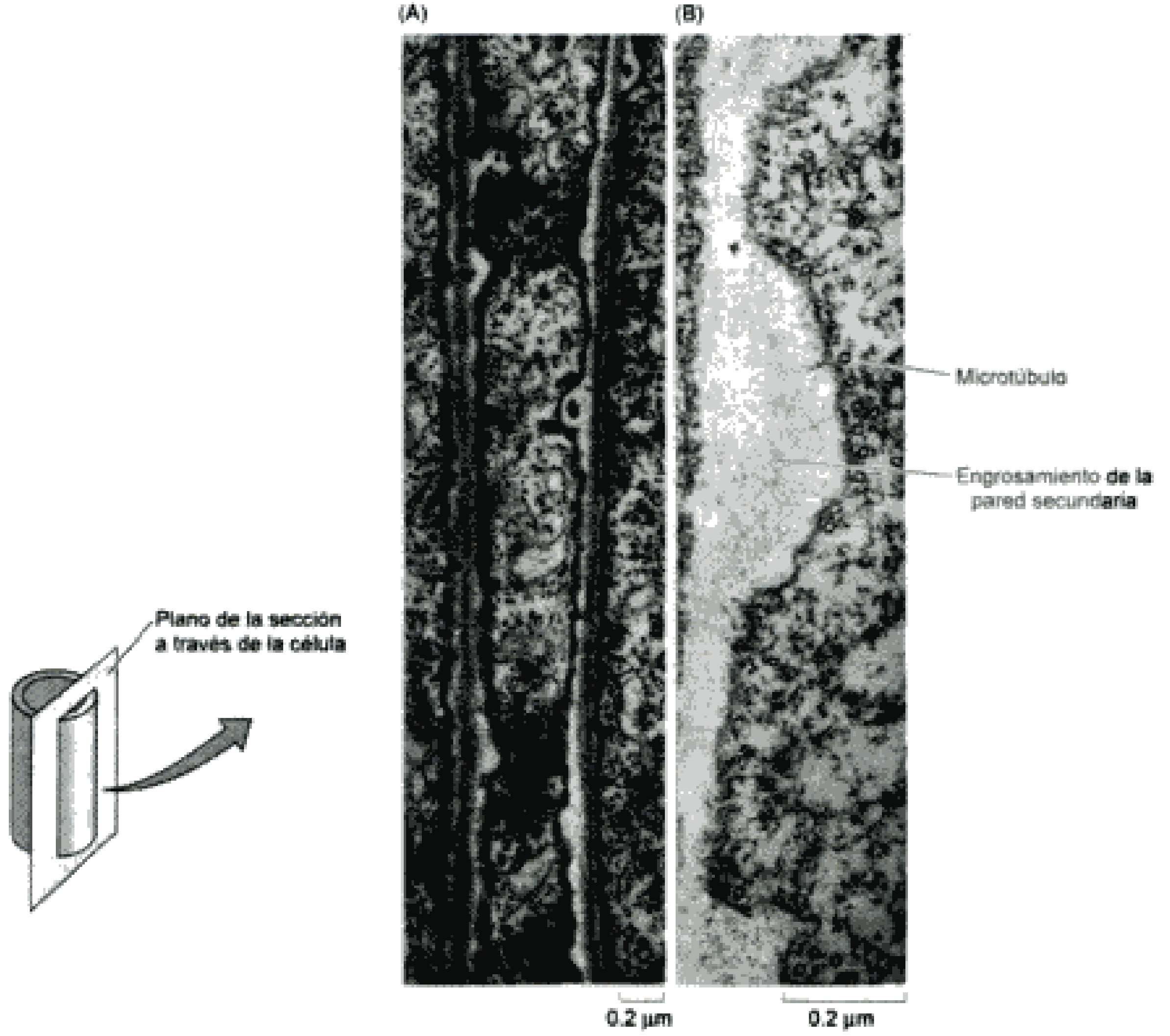

(A)
(B)
Microtúbulo
Engrosamiento de la pared secundaria
Plano de la sección a través de la célula
0.2 µm
0.2 µm

Figura 16.21 Desarrollo de los engrosamientos de la pared secundaria en los elementos de los vasos de la raíz del helecho de agua *Azolla*. (A) Micrografía electrónica de una sección cortada a través de células en diferenciación. Los grupos de microtúbulos se observan en las células del cortex, formando bandas en el sitio de engrosamiento de la pared antes de que la pared secundaria se empiece a formar. Una gran cantidad de vesículas pequeñas se agrupan junto a los microtúbulos. (B) Se desarrollan engrosamientos anulares bajo las bandas de microtúbulos y tienen un perfil hemisférico. (Cortesía de A. Hardham.)

celulósicos en puntos específicos de la pared primaria o secundaria, que conduce a la formación de gruesas paredes con patrones específicos (véase el capítulo 15). Las paredes secundarias de los elementos traqueales tienen un contenido mayor de celulosa que las paredes primarias, y están impregnadas de lignina, normalmente no presente en las paredes primarias.

En regiones de crecimiento rápido, los materiales de la pared secundaria se depositan en anillos discretos, o siguiendo un patrón en espiral, con los engrosamientos separados por bandas de pared primaria (Figura 16.20). A medida que la célula crece, la pared primaria se extiende y los anillos o espirales se separan entre sí. Los

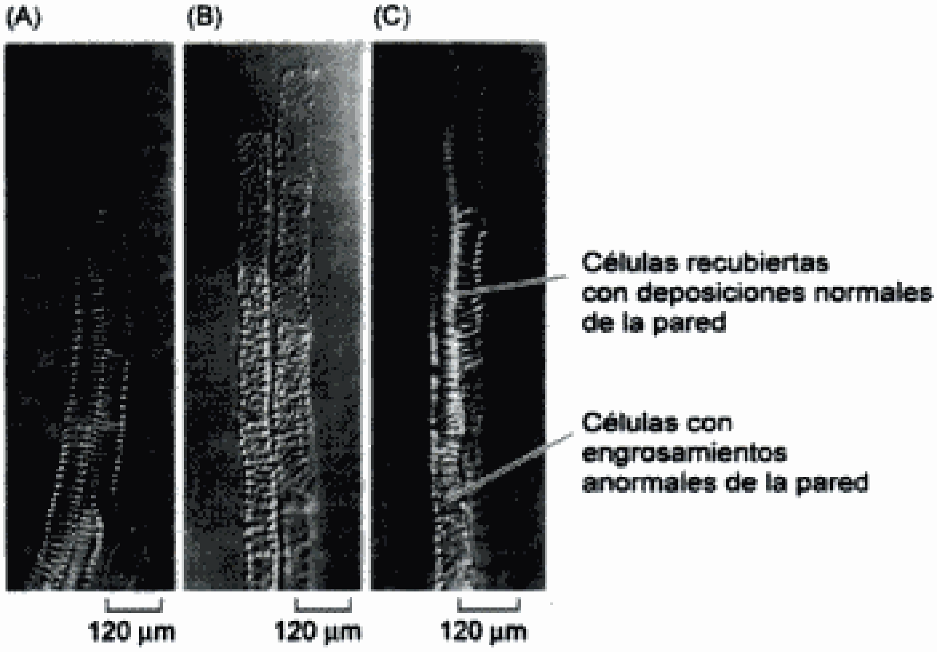

(A)
(B)
(C)
Células recubiertas con deposiciones normales de la pared
Células con engrosamientos anormales de la pared
120 µm
120 µm
120 µm

Figura 16.22 Los tratamientos con colchicina que destruyen los microtúbulos, también inhiben la formación normal de los engrosamientos de la pared secundaria en los elementos de los vasos en diferenciación. (A) Durante el crecimiento normal de las raíces de *Azolla*, los engrosamientos de la pared están espaciados a lo largo de los lados de las paredes. (B) En presencia de colchicina, se deposita material de la pared secundaria con un patrón irregular. (C) Cuando se transfieren a un medio nuevo sin colchicina, las raíces son capaces de recuperarse y se forman nuevos elementos de de los vasos con engrosamientos anulares normales. (A Según Hardham y Gunning 1979; B y C según Hardham y Gunnning 1980.)

elementos traqueales que se forman tras el cese de la elongación normalmente tienen paredes gruesas. Estos engrosamientos pueden ser uniformes o con un patrón reticular. Estas células no pueden extenderse por crecimiento.

Los microtúbulos participan en la determinación del patrón de deposición de la pared secundaria. Antes de que sea evidente cualquier modificación en el patrón de deposición de la pared, los microtúbulos corticales cambian pasando de estar más o menos distribuidos a lo largo de las paredes longitudinales de las células a agruparse en bandas (Figura 16.21A). La pared secundaria se deposita entonces bajo las agrupaciones de microtúbulos (véase la figura 16.21B).

La orientación de las microfibrillas de celulosa en el engrosamiento de la pared secundaria se refleja en el alineamiento de los microtúbulos en el citoplasma cortical (Hepler 1981). Si se eliminan los microtúbulos con un agente antimicrotúbulos como la colchicina, la deposición de la pared celular puede continuar, pero las microfibrillas de celulosa no se ordenan de forma precisa en los engrosamientos, y el patrón de la pared secundaria puede quedar alterado (Figura 16.22).

INICIO Y REGULACIÓN DE LAS RUTAS DE DESARROLLO

Se han realizado importantes avances en la identificación de genes que tienen funciones críticas en la regulación del crecimiento, en la diferenciación celular y en el establecimiento de patrones de. Este avance es una consecuencia del intenso esfuerzo internacional centrado en *Arabidopsis*: en primer lugar para secuenciar su genoma, y a continuación para entender la función de todos sus genes. Sin embargo, muchos descubrimientos importantes se han obtenido como resultado de los estudios con otras especies, como *Antirrhinum*, maíz, petunia, tomate y tabaco.

En la mayoría de casos, los genes de importancia en desarrollo se han identificado tras elaborados rastreos en la descendencia de plantas mutagenizadas buscando individuos mutantes con el patrón de desarrollo alterado (véase el ejemplo de la figura 16.8B). Estos estudios suelen implicar esfuerzos heroicos para mapear, clonar y secuenciar el gen mutante, aunque ahora que su genoma ha sido secuenciado, la forma de identificar un gen mutante particular y lo que codifica es mucho más corta en *Arabidopsis*.

Hasta el momento se han identificado algunos de los jugadores, aunque las reglas del juego y las funciones específicas de la mayoría de los genes están siendo investigadas todavía. No obstante, se ha descubierto que muchos de los genes importantes en el desarrollo codifican factores de transcripción (proteínas que tienen la capacidad de unirse a secuencias de DNA específicamente y controlar así la expresión de otros genes) o componentes de las rutas de señalización. La naturaleza de estos genes sugiere algunas posibles rutas de regulación del desarrollo.

Donde estos estudios genéticos se han podido acoplar con análisis clonales, estudios de biología celular, fisiología y/o bioquímica, ha sido posible identificar principios importantes del desarrollo vegetal. Aunque estamos lejos de completar los conocimientos, algunas pistas indican que:

- La expresión de genes que codifican factores de transcripción determina la identidad de la célula, tejido y órgano.
- El destino de una célula viene determinado por su posición y no por su historia clonal.
- Las rutas de desarrollo están controladas por redes de genes que interactúan entre sí.
- El desarrollo está regulado por señalización célula a célula.

En el análisis siguiente, examinaremos en primer lugar la naturaleza de los factores de transcripción y los genes componentes de la ruta de transducción de señal que tienen funciones clave en el desarrollo. A continuación perfilaremos con detalle cada uno de los principios del desarrollo descritos aquí.

Los genes de los factores de transcripción controlan el desarrollo

Con la secuenciación completa del genoma de *Arabidopsis*, se comprobó que unos 1500 de sus cerca de 26.000 genes codifican factores de transcripción (Riechmann y col. 2000). Los **factores de transcripción** son proteínas con una gran afinidad por el DNA. Son capaces de iniciar o detener la expresión de genes por unión a secuencias específicas de DNA (véase el capítulo 14 en la página web).

Estos 1500 genes de factores de transcripción pertenecen a muchas familias. Cerca de la mitad de ellos se encuentran sólo en plantas, pero la mayoría se encuentran en todos los eucariotas. No se sabe, o no puede estimarse en este momento, cómo regulan las rutas de desarrollo muchos de estos factores de transcripción porque sólo se ha estudiado un pequeño porcentaje de ellos. Sin embargo, se ha encontrado que muchos miembros de dos familias, los genes MADS box y homeobox, tienen una función particularmente importante en el desarrollo vegetal.

Los **genes MADS box** son reguladores clave de funciones biológicas en plantas, animales y hongos.[2] Hay unos 30 genes MADS box en el genoma de *Arabidopsis*, muchos de los cuales controlan aspectos del desarrollo. Los genes MADS box específicos son importantes en procesos de desarrollo de la raíz, hoja, flor, primordios seminales y fruto (Riechmann y Meyerowitz 1997). Controlan la expresión de grupos de genes diana, aunque en este momento la mayoría de estos genes permanecen sin identificar.

Cualquier gen MADS box se expresa de un modo específico temporal y espacialmente, estando su expresión determinada por otros genes o procesos de señalización. Este hecho ha sido establecido con más claridad en el caso del desarrollo de flores, donde se ha visto que grupos de genes MADS box que interactúan, determinan la identidad de órgano floral (véase el capítulo 24).

Los **genes homeobox** codifican proteínas homeodominios que actúan como factores de transcripción. Las **proteínas homeodominio** tienen un papel fundamental en las rutas de regulación de todos los eucariotas (véase el capítulo 14 en la página web). Como los genes MADS box, cada gen homeobox participa en la regulación de un único proceso de desarrollo, controlando la expresión de un único grupo de genes diana.

Las proteínas homeodominio que pertenecen a la clase *KNOTTED1* (*KN1*, del inglés *kn*otted *1*, anudado 1) están implicadas en el mantenimiento de la indeterminación del meristemo apical caulinar. La mutación original *knotted1* (*kn1*) se encontró en maíz, y es una mutación de ganancia de función. En las mutaciones de **ganancia de función**, o **dominantes**, el fenotipo resulta de la expresión anormal de un gen. Por el contrario, de los fenotipos de mutaciones de **pérdida de función** resultan de la pérdida de la expresión de un gen y las mutaciones son **recesivas**.

---

[2] Las siglas MADS proceden de las iniciales de los cuatro primeros miembros de una familia de factores de transcripción: *MCM1*, *AGAMOUS*, *DEFICIENS* y *SRF*.

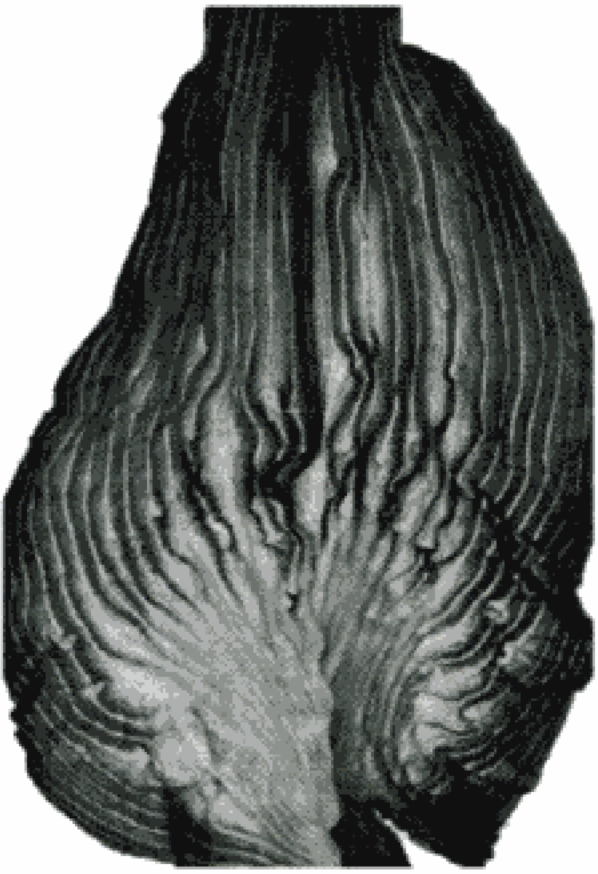


Figura 16.23 La inapropiada expresión del gen *KN1* durante el desarrollo de una hoja provoca anormalidades importantes alrededor de las venas de la hoja. La mutación de ganancia de función *kn1* provoca la proliferación celular después del cese de divisiones celulares normales; además, los planos de división son anormales, provocando una gran distorsión de la superficie de la hoja. (Según Sinha y col. 1993a, cortesía de S. Hake.)

Las plantas con la mutación *kn1* tienen nudos pequeños e irregulares con aspecto tumoral a lo largo de las nervaduras foliares. Estos nudos son producto de divisiones celulares anormales en los tejidos vasculares que distorsionan las venas para formar los nudos, que sobresalen de la superficie foliar (Figura 16.23) (Hake y col. 1989).

La diferenciación celular es relativamente normal en las hojas de las plantas mutantes *kn1*, excepto en la proximidad de los nudos. Los nudos son similares a los meristemos en cuanto que contienen células indiferenciadas y continúan dividiéndose después de que las células que las rodean hayan madurado y cesado sus divisiones. Este comportamiento sugiere que el gen *KN1* controla la función meristemática. El fenotipo mutante resulta de la expresión del gen en tejidos equivocados, más que de la pérdida del patrón de expresión de desarrollo normal. Los genes homeobox similares a *KNOTTED1*, o **KNOX**, se han encontrado en otras especies vegetales. *Arabidopsis* tiene tres: *KNAT1*, *KNAT2* y *SHOOTMERISTEMLESS* (*STM*) (Lincoln y col. 1994; Long y col. 1996).

Las plantas de tabaco que han sido transformadas con el gen de maíz *KN1*, dirigidas por un promotor que expresa el gen en toda la planta, desarrollan numerosos meristemos adventicios a lo largo de las superficies de las hojas (Sinha y col. 1993b). Estas anormalidades son similares a la mutación original de ganancia de función *kn1*. De esto podemos concluir que la correcta expresión del gen *KN1* está implicada en la definición de la función del meristemo.

Muchas rutas de señalización vegetal utilizan proteína quinasas

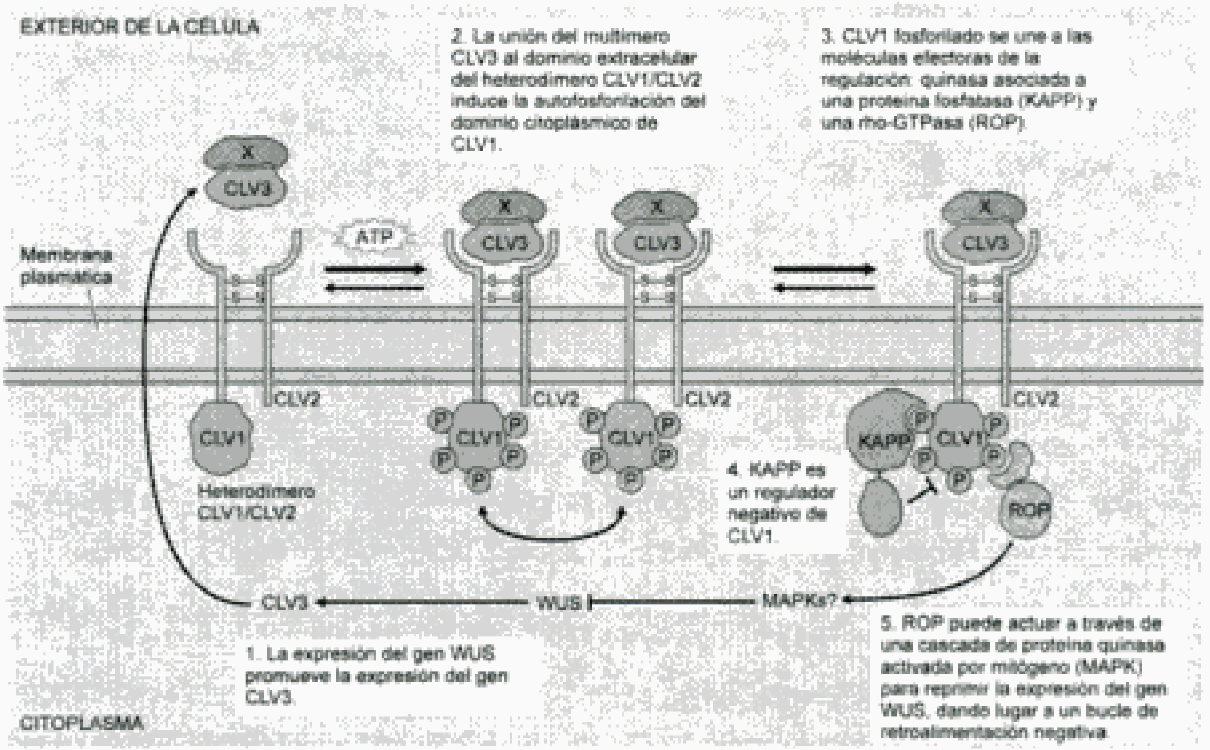
Los enzimas proteína quinasas son enzimas dependientes de ATP que añaden grupos fosfato a proteínas. La fosforilación de proteínas es un mecanismo regulador clave, ampliamente utilizado para regular la actividad de enzimas y factores de transcripción. Aunque está muy extendido en todos los eucariotas, los genomas vegetales son especialmente ricos en genes que codifican estos enzimas. El genoma de *Arabidopsis* contiene cerca de 1200 genes que codifican proteína quinasas. De ellos, más de 600 codifican *receptores proteína quinasas* (véase el capítulo 14 en la página web) (Shiu y Bleecker 2001).

La función de la mayoría de estos receptores proteína quinasas es desconocida, pero recientemente se ha visto que tienen importantes funciones en las rutas de señalización del desarrollo vegetal. *Arabidopsis* tiene dos genes de este tipo: *BRI1*, que codifica un receptor proteína quinasa que participa en la señalización de brasinoesteroides (véase el **tema web 19.14**), y *CLAVATA1* (*CLV1*), que codifica un receptor proteína quinasa que participa en la regulación del tamaño de las poblaciones de células no determinadas en el meristemo apical del brote (analizaremos *CLV1* más adelante en el capítulo).

Los **receptores quinasa** suelen ser proteínas integrales de membrana. El dominio receptor de estas quinasas se encuentra fuera de la membrana plasmática; el dominio quinasa catalítico está dentro de la célula, unido al dominio receptor por un dominio transmembrana. El dominio receptor tiene una gran afinidad por una molécula señal, con frecuencia una proteína pequeña o péptido, que se llama **ligando receptor**.

En ausencia del ligando, el enzima quinasa es inactivo. La unión del ligando al receptor convierte la proteína en una quinasa activa (Figura 16.24). En el caso de *CLV1*, la unión del ligando inicia la formación de un complejo que consta de la proteína *CLAVATA1*, una proteína fosfatasa asociada a quinasa (KAPP) y una proteína rho GTPasa. El ligando de *CLV1* es probablemente una proteína pequeña, codificada por otro gen *CLAVATA*, *CLV3* (véase la figura 16.24) (Clark y col. 1993; Clark 2001).

Los genes *CLAVATA* fueron identificados por primera vez como mutaciones que daban lugar a un aumento del tamaño del meristemo apical caulinar vegetativo



2. La unión del multímero CLV3 al dominio extracelular del heterodímero CLV1/CLV2 induce la autofosforilación del dominio citoplásmico de CLV1.

3. CLV1 fosforilado se une a las moléculas efectoras de la regulación: quinasa asociada a una proteína fosfatasa (KAPP) y una rho-GTPasa (ROP).

4. KAPP es un regulador negativo de CLV1.

1. La expresión del gen WUS promueve la expresión del gen CLV3.

5. ROP puede actuar a través de una cascada de proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) para reprimir la expresión del gen WUS, dando lugar a un bucle de retroalimentación negativa.

Figura 16.24 Modelo de la ruta de señalización de los receptores quinasa *CLAVATA1/CLAVATA2* (*CLV1/CLV2*), que forman un bucle de retroalimentación negativa con el gen *WUS*. Para más información sobre las rutas de señalización del receptor quinasa véase el capítulo 14 en la página web. (Según Clark 2001.)

y de los meristemos florales. Una consecuencia fue el aumento del número de órganos laterales producidos por los meristemos en estos mutantes, y particularmente evidente en el número de órganos florales producido por los meristemos mutantes. Mientras *CLV1* codifica un receptor proteína quinasa típico, *CLV2* codifica una proteína con un dominio receptor similar al de *CLV1*, pero que carece del dominio quinasa. La proteína codificada por el gen *CLV3* no está relacionada ni con *CLV1* ni con *CLV2*.

El destino de una célula viene determinado por su posición

Tanto en el meristemo radical como caulinar, un pequeño grupo de células madre son, en último término, la fuente de cualquier tejido y la mayoría de las células de un tejido dado son clones que proceden de la misma célula madre. Sin embargo, la mayoría de pruebas apoyan la idea de que *el destino de una célula no depende del linaje celular, sino que está determinado por la información de su posición* (Scheres 2001).

En la gran mayoría de casos, las células epidérmicas del brote derivan de un pequeño número de células madre en la capa L1. Sin embargo, las derivadas de la capa L1 están determinadas a convertirse en células epidérmicas debido a que ocupan

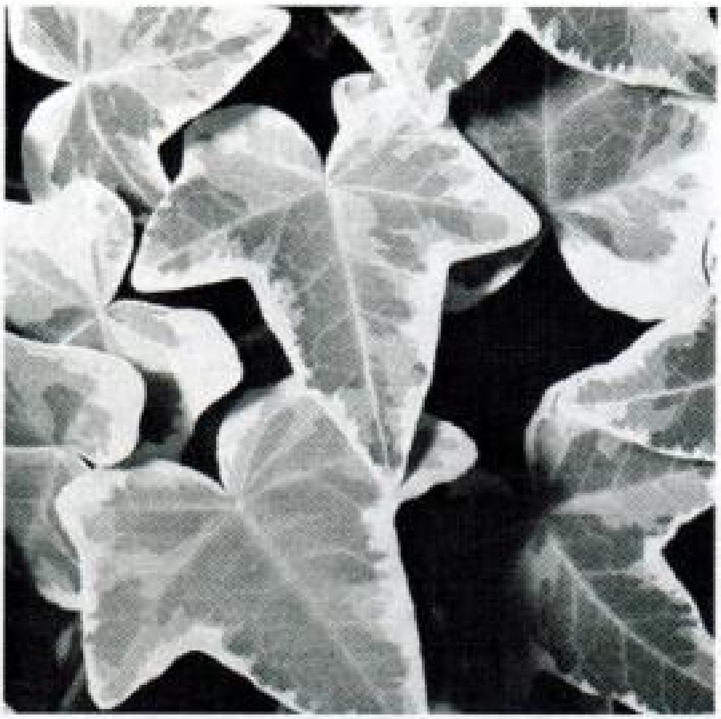


Figura 16.25 Las quimeras periclinales demuestran que los tejidos del mesofilo tienen más de un único origen clonal en la hiedra inglesa (*Hedera helix*). Estas hojas jaspeadas aportan pistas de los diferentes orígenes clonales de los diferentes tejidos. Una mutación en un gen esencial para el desarrollo de los cloroplastos se produce en algunas de las células iniciales del meristemo, y las células derivadas de estas células madre mutadas carecen de cloroplastos y son blancas, mientras que las células derivadas de otras células madre tienen cloroplastos normales y aparecen verdes (Cortesía de S. Poetig).

la capa más externa y limitan con la parte superior de las células de la capa cortical, no porque clonalmente deriven de las células madre de la capa L1.

El plano por el cual se divide la célula determinará la posición de sus células hijas en un tejido, y esta posición adquiere un papel principal en la determinación del destino de las células hijas. La evidencia más contundente de la importancia del posicionamiento en la determinación del destino final de una célula procede del examen del destino de las células que son desplazadas desde su posición normal, de forma que pasan a ocupar una capa diferente.

La gran mayoría de las divisiones de las capas L1 y L2 del meristemo son anticlinales, y la división anticlinal es responsable de la generación de las capas en primer lugar. Sin embargo, a veces se producen divisiones periclinales, provocando que una derivada ocupe una capa adyacente. Esta división periclinal no altera la composición del tejido derivado de esta capa. En lugar de eso, las células derivadas asumen una función que es apropiada para una célula que ocupa esa capa.

La importancia de la posición en la determinación del destino celular fue posteriormente corroborada analizando la diferenciación celular en hojas de hiedra (*Hedera helix*), que tienen una mezcla de células mutantes y del tipo silvestre. Cuando se produce una mutación en una célula madre del meristemo apical del brote, todas las células de la planta que derivan de esa célula madre portarán la mutación. Esta planta se dice que es una **quimera**, una mezcla de células con diferente contenido genético. El análisis de quimeras es útil para los estudios del origen clonal de diferentes tejidos.

Cuando la mutación afecta a la capacidad de los cloroplastos para diferenciarse, la presencia de sectores albinos muestra que estos sectores derivan de las células madre que contienen la mutación. En la planta de hiedra que se muestra en la figura 16.25, la capa L2 presenta una mutación que causa albinismo, mientras que las capas L1 y L3 tienen una copia silvestre del mismo gen. La capa L1 da lugar a la epidermis de la hoja y del tallo, pero la ausencia de color es debida a que los cloroplastos no se diferencian en la mayoría de las células epidérmicas. El tejido mesofilo típico deriva de la capa L2, por lo que las hojas serán blancas debido a que las células madre portan el gen mutante y lo han transferido a sus células derivadas.

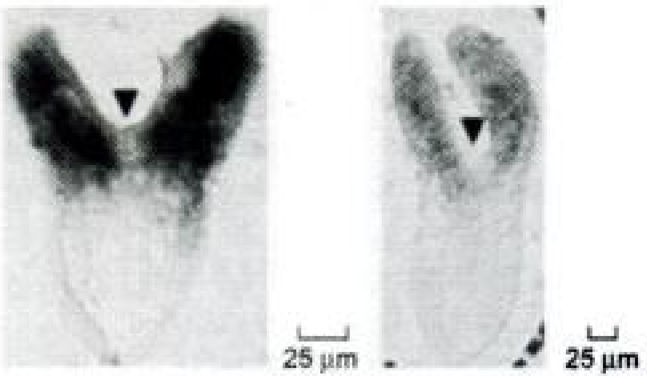
Aunque sólo unas pocas hojas son blancas o casi, la mayoría de las hojas muestran manchas verdes. Son **variegadas**. El tejido verde de estas hojas deriva de células originarias de la capa L1 ó L3; las regiones incoloras derivan de la capa L2. El aspecto jaspeado se produce porque divisiones periclinales ocasionales de la capa L1 o L3 al inicio del desarrollo de la hoja establecen clones de células que pueden diferenciarse como células verdes del mesofilo. Este hecho constituye una nueva prueba de que la diferenciación celular es independiente de la línea celular. El destino de una célula durante el desarrollo viene determinado por la posición que ocupa en la planta.

Las rutas de desarrollo están controladas por redes de genes que interactúan

Queda mucho que aprender sobre las redes reguladoras que controlan las rutas de desarrollo. Sin embargo, varios descubrimientos apuntan a un modelo en el que la señalización a corta y larga distancia controla la expresión de los genes que codifican los factores de transcripción. Estos factores de transcripción determinan a su vez el carácter o actividades de un tejido o célula. Con frecuencia estos mecanismos implican bucles de retroalimentación en los que dos o más genes interactúan para regular la expresión de cada uno. Estas interacciones se muestran claramente en el caso del meristemo apical caulinar.

La expresión de *STM* (*SHOOTMERISTEMLESS*), un gen KNOX, es esencial para la formación del meristemo apical caulinar en el embrión de *Arabidopsis* y para la función del meristemo en el crecimiento de la planta. *STM* se expresa en todo el domo apical del meristemo vegetativo, excepto en el primordio foliar que se está desarrollando. Del mismo modo, *STM* se expresa en el domo del meristemo floral, pero se silencia a medida que aparecen los órganos florales. Dos genes *KNOX* adicionales (*KNAT1* y *KNAT2*) se expresan también en el meristemo apical de *Arabidopsis* y participan en el mantenimiento de las células meristemáticas en un estado no diferenciado.

(A) Embriones tipo silvestre



(B) Embriones mutante *stm*

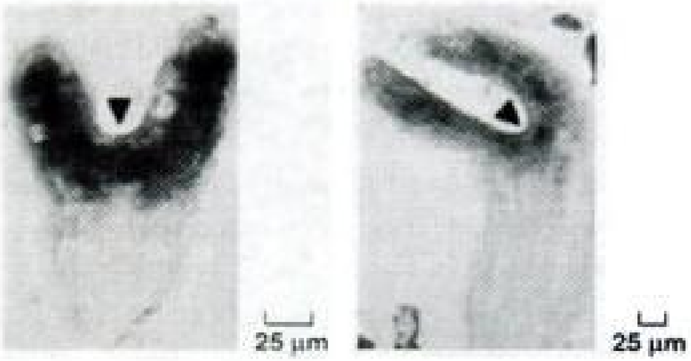
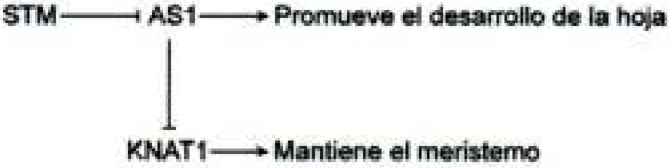


Figura 16.26 El gen de identidad de meristemo, *STM*, inhibe la expresión del gen *ASYMMETRIC LEAVES1* (*AS1*), que promueve el desarrollo foliar en *Arabidopsis*. Las flechas señalan el meristemo apical del brote. (A) La expresión del gen *STM* suele estar confinada al meristemo apical del brote en el tipo silvestre, y le confiere la identidad de meristemo en el meristemo vegetativo. Por el contrario, el gen *AS1* está confinado en el primordio foliar y en los cotiledones en desarrollo en el tipo silvestre, como muestra la hibridación *in situ* de embriones en dos estados de desarrollo. (B) En mutantes *stm*, la expresión del gen *AS1* se extiende en la región que normalmente llegaría a formar el meristemo apical del brote. Como consecuencia, el meristemo apical no se forma. (Según Byrne y col. 2000.)

Debido a que las células se dividen activamente en los estados iniciales del desarrollo de de los primordios foliares y órgano floral, el *STM* no es necesario para la división celular. Más bien *KN1*, *STM* y sus homólogos funcionales mantienen la identidad del meristemo suprimiendo la diferenciación. Otro gen, *ASSYMETRIC LEAVES1* (*AS1*, del inglés *as*symetric leaves *1*, hojas asimétricas 1) promueve el desarrollo de la hoja y se expresa en el primordio y hojas jóvenes de *Arabidopsis* (Figura 16.26) (Byrne y col. 2000). *STM* reprime la expresión de *AS1*, y *AS1* reprime a su vez la expresión de *KNAT1* en el primordio foliar en desarrollo (Ori y col. 2000):



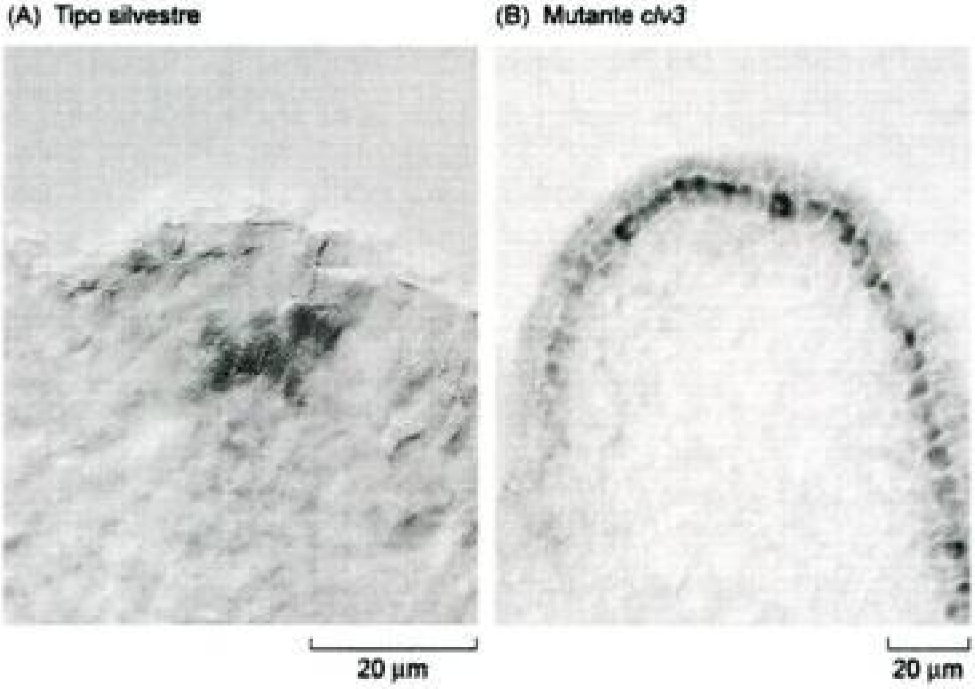


Figura 16.27 Expresión del gen *WUS* en el meristemo apical del brote en el tipo silvestre y en mutantes *clv3*. La localización del mRNA de *WUS* se realizó por hibridación *in situ*. (A) En el tipo silvestre, la expresión de *WUS* está confinada a un pequeño grupo de células. (B) En el mutante *clv3*, la expresión de *WUS* se extiende apical y lateralmente, y el meristemo apical mismo se alarga. (Brandt y col. 2000.)

El gen *WUSCHEL* (*WUS*), que codifica otro factor de transcripción homedominio, es un regulador clave de la indeterminación de las células madre (Laux y col. 1996). En las plantas con mutaciones *wus* de pérdida de función, o bien carecen por completo de un meristemo apical, o bien sus células madre se agotan una vez se han formado unas pocas hojas. Los genes *CLAVATA* regulan negativamente la expresión de *WUS*. La expresión de *WUS* se expande en mutantes *clv1* y *clv3* (Figura 16.27). Por el contrario, la expresión de *WUS* regula positivamente la expresión del gen *CLV3*; (véase la figura 16.24) (Brand y col. 2000).

El desarrollo está regulado por la señalización célula a célula

¿Cómo saben las células su posición? Si el destino de una célula está determinado por su posición y no por la línea clonal, las células deben ser capaces de detectar su posición relativa a otras células, tejidos y órganos. Las células vecinas, y los tejidos y órganos distantes proporcionan la información posicional. Las células en las plantas pluricelulares normalmente están en estrecho contacto con otras a su alrededor, y el comportamiento de cada célula está cuidadosamente coordinado con el de sus vecinas a lo largo de la vida de la planta. Además, cada célula ocupa una posición específica en el tejido y órgano al cual pertenece.

La coordinación de la actividad celular requiere la comunicación célula a célula. Es decir, algunos genes importantes del desarrollo actúan de forma *no autónoma*. No tienen por qué expresarse en una célula dada para afectar el destino de esa célula. Un gen o grupo de genes determinados puede ejercer un efecto sobre el desarrollo en las células vecinas o incluso en células de tejidos distantes a través de la comunicación célula a célula, a través de al menos tres mecanismos diferentes:

1. Señalización inducida por ligando
2. Señalización hormonal
3. Señalización por transporte de proteínas reguladoras y/o mRNA.

Señalización inducida por ligando. Hay evidencias de que los componentes de la pared celular, particularmente una clase de glicoproteínas conocidas como **proteínas arabinogalactano** o **AGPs**, pueden comunicar información posicional que determinará el destino celular (véase el capítulo 15). Las AGPs no estarían implicadas en la señalización a distancia, sino más bien en indicar a una célula dada quiénes son sus vecinas. Esa información induce a la célula a diferenciarse, o adquirir un destino apropiado a su posición.

Como las plantas tienen numerosos, quizás cientos, de receptores quinasa, podríamos esperar que la cadena de señalización se inicie con la fosforilación de una proteína inducida por ligando. Sin embargo actualmente se conocen pocos ligandos que activen proteínas. Pero hay evidencias de que la pequeña proteína codificada por el gen *CLV3* es el ligando que activa la proteína quinasa *CLV1*.

La proteína *CLV3* contiene menos de 100 aminoácidos y una secuencia líder, que sugiere que es excretada de las células que la producen (Fletcher y col. 1999). Debido a su pequeño tamaño y a su solubilidad en agua, puede difundir libremente a través del espacio extracelular o apoplasto.

El **apoplasto** está formado por el espacio ocupado por las paredes celulares. Las macromoléculas de la pared celular son muy hidrofílicas y las paredes contienen espacios entre las macromoléculas con un tamaño de poro aparente de 3,5 a 5 nm. Esto significa que las moléculas con una masa inferior a los 15 KDa pueden difundir libremente a través del apoplasto. La proteína *CLV3*, con un tamaño molecular de aproximadamente 11 KDa, puede difundir fácilmente a través del apoplasto.

El gen *CLV3* se expresa en las células de las capas L1 y L2 en la zona central del meristemo apical del brote, pero no en la capa L3 o en la zona periférica. Por el contrario, *CLV1* se expresa en las capas más profundas de la zona central en la capa L3, al igual que el gen *WUS*. Sin embargo, el *CLV1* se expresa en un dominio algo mayor que *WUS* (Figura 16.28). Aunque se requiera la expresión del gen *WUS* para mantener la identidad de las células madre, *WUS* se expresa sólo en un pequeño grupo de células en la capa L3 del meristemo. Funciona no

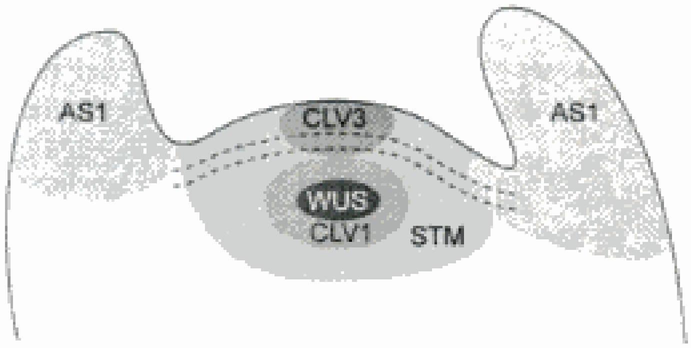


Figura 16.28 Patrones de expansión de algunos genes importantes en el desarrollo en el meristemo apical del brote de *Arabidopsis*. (Según Clark 2001.)

autónomamente, actuando sobre las células próximas a las células que expresan el gen.

La proteína *CLV3* controla el tamaño de la población de células madre en el ápice caulinar por una regulación negativa de la expresión de *WUS* en la capa L3. El gen *CLV3* se expresa en células en la zona central del meristemo, en las capas L1 y L2. Cuando *CLV1* o *CLV3* está anulado por una mutación, la expresión del gen *WUS* se extiende y el número de células madre indiferenciadas aumenta (Brand y col. 2000). Como esta expansión requiere a *CLV1*, es probable que la proteína *CLV3* difunda desde las células de L1 y se una al dominio receptor de *CLV1* activando su dominio quinasa y así iniciar una señal que reprima la transcripción del gen *WUS*.

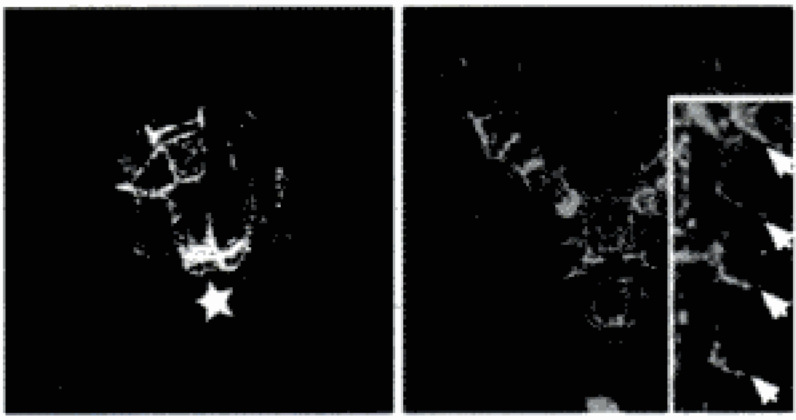
La expresión del gen *WUS* promueve la expresión *CLV3*, que a su vez reprime la expresión de *WUS*. Así el meristemo tiene un mecanismo de retroalimentación negativa para el control del tamaño de la población de las células madre.

***Señalización hormonal*.** Todas las hormonas vegetales (auxinas, etileno, giberelinas, ácido abscísico, citoquininas y brasinoesteroides) participan en la regulación del desarrollo. Estas funciones se estudiarán con detalle en los capítulos y secciones dedicadas a estos temas. En este análisis, sin embargo, nos centraremos en la señalización por auxinas como un ejemplo de los tipos de mecanismos que estas funciones pueden tener. Este tema se analizará con mucho detalle en el capítulo 19.

La señalización por auxinas es esencial para el desarrollo de la polaridad y el desarrollo del tejido vascular. Desde hace tiempo se conoce el papel de las auxinas como señal de inicio de la diferenciación del tejido vascular (véase el capítulo 19). Esta conclusión, no obstante, se basa fundamentalmente en estudios de los efectos de la aplicación de auxinas e inhibidores del transporte de auxinas. Más recientemente, se ha descubierto que dos genes de *Arabidopsis* (*GNOM* y *MONOPTEROS*) son esenciales para el desarrollo de la polaridad axial, la diferenciación de tejido durante la embriogénesis y el desarrollo de la planta adulta, y están implicados en la señalización por auxinas. Como indicamos anteriormente, el gen *GNOM* de *Arabidopsis* se

Embriones tipo silvestre

(A) Globular temprano (B) Medio corazón



Embriones mutantes *gnom*

(C) Globular temprano (D) Medio corazón

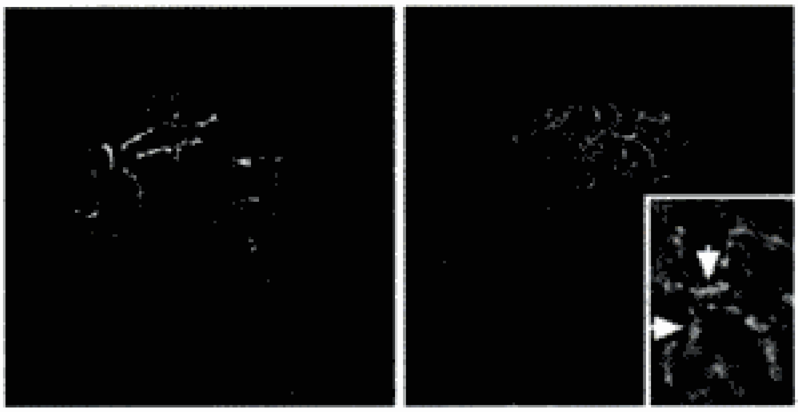


Figura 16.29 Comparación de los patrones de la proteína *PIN1* transportadora de eflujo de auxinas en embriones de *Arabidopsis* de tipo silvestre y en mutantes *gnom*. (A) Tipo silvestre, estado globular; *PIN1* está localizado en el tejido provascular inicial en el estado globular inicial, donde la proteína se acumula en el límite basal de las cuatro células internas que darán lugar al tejido provascular. (B) Tipo silvestre, estado de corazón medio; en el estado corazón, las células provasculares han acumulado la proteína *PIN1* en sus extremos basales (véase el recuadro). (C) Mutante *gnom*, estado globular inicial; *PIN1* no se acumula en la región donde se formará el tejido provascular en el estado globular inicial del mutante *gnom*. (Según Steinmann y col. 1999). (D) Mutante *gnom*; corazón medio; la formación del tejido provascular está bloqueada en el mutante *gnom*, y el desarrollo normal está alterado. *PIN1* está todavía insertado en las membranas en el mutante, pero su localización está desorganizada (véase el recuadro). (Según Steinmann y col. 1999.)

identificó debido a que mutantes homocigotos para este gen presentan embriones sin raíces ni cotiledones, y que no desarrollan la polaridad axial correctamente (véase la figura 16.7A) (Mayer y col. 1993).

El producto del gen *GNOM* es necesario para la correcta localización de la proteína PIN1 transportadora de eflujo auxinas (Figura 16.29). *GNOM* codifica un factor de intercambio del nucleótido guanina, componente de la maquinaria celular que establece la polaridad. La maquinaria, y la proteína del gen *GNOM* en particular, es necesaria para la correcta localización de la proteína transportadora PIN1 de eflujo de auxinas en el extremo basal de las células del procambium durante el estado globular en la embriogénesis, y posteriormente en células vasculares durante el desarrollo (Steinmann y col. 1999; Grebe y col. 2000).

Como hemos visto, las mutaciones en el gen *MONOPTEROS* (*MP*) dan lugar a plántulas que carecen de hipocotilo y raíz, aunque tienen una región apical. Sin embargo, las estructuras apicales en los embriones mutantes *mp* no son estructuralmente normales y los tejidos de los cotiledones están desorganizados (véase la figura 16.7B) (Berleth y Jürgens 1993). Los embriones mutantes *mp* muestran en primer lugar anormalidades en el estado octante, y no forman un procambium en la parte inferior del embrión globular, la parte que tendría que da lugar al hipocotilo y a la raíz. Más adelante se forma algún tejido vascular en los cotiledones, pero los haces están conectados inadecuadamente.

El gen *MP* codifica una proteína relacionada con un factor de transcripción conocido como ***ARF*** (**factor de respuesta a auxinas**) (Hardtake y Berleth 1998). Tanto *ARF* como *MONOPTEROS* se unen a elementos de respuesta a auxinas en los promotores de ciertos genes que se transcriben en presencia de auxinas. Aparentemente, el gen *MP* es necesario para la expresión de los genes implicados en la diferenciación del tejido vascular.

Otra evidencia que apoya la señalización por auxinas durante la embriogénesis incluye el hallazgo de que se requiere un posible receptor proteico de auxinas, ***ABP1***, para la elongación y división celular en la embriogénesis. Los mutantes homocigotos para *abp1* de *Arabidopsis* no forman embriones maduros, aunque se desarrollan normalmente hasta llegar al estado globular. Estos mutantes no pueden realizar la transición a la simetría bilateral, y las células son incapaces de alargarse (Chen y col. 2000).

La señalización por auxinas también participa en la organogénesis del meristemo apical del brote y en la formación de las raíces laterales. Las plantas de *Arabidopsis* con mutaciones en la proteína transportadora *PIN1* de eflujo de auxinas desarrollan inflorescencias alargadas, desprovistas de órganos laterales (Figura 16.30). En las plantas de tipo silvestre, la expresión del gen *PIN1* está regulada positivamente en las primeras etapas de la formación del primordio, antes de que el primordio empiece a hincharse. El meristemo apical del brote en el extremo de una inflorescencia en las plantas mutantes *pin1* tiene una estructura normal, excepto que no se generan órganos en la zona periférica y el brote producido carece de apéndices laterales (Vernousx y col. 2000). Por lo tanto, probablemente se requieren auxinas para la señalización en los procesos tempranos de la organogénesis del meristemo apical caulinar.

Esta hipótesis está apoyada por trabajos en plantas de tomate. Cuando se cultivan meristemos apicales de tomate en un medio que contiene ácido N-1-naftilftalámico (NPA), un inhibidor del transporte de auxinas, continúan creciendo, pero se desarrollan brotes alargados que carecen de apéndices laterales. Cuando estos meriste-

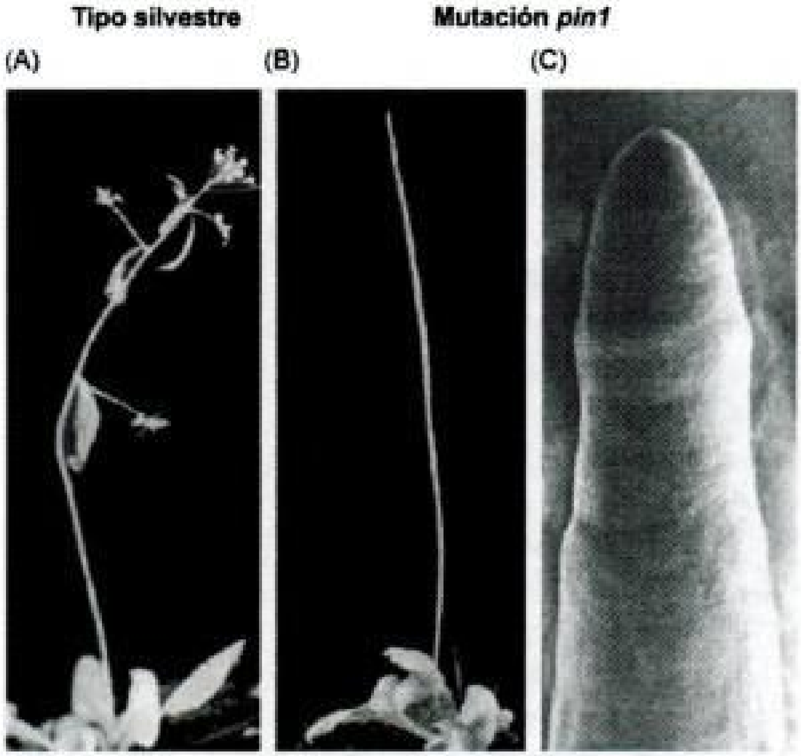


Figura 16.30 El gen *PIN1* es esencial para la formación de los órganos laterales del meristemo de inflorescencia en *Arabidopsis*. (A) El meristemo de inflorescencia genera un tallo con hojas caulinares y numerosas yemas florales en el tipo silvestre. (B) Las plantas con la mutación *pin1* producen un meristemo de inflorescencia, pero no puede generar órganos laterales. (C) El meristemo de inflorescencia produce sólo tejidos axiales, similares al meristemo apical radical, como se muestra en esta micrografía electrónica de barrido. (Según Vernoux y col. 2000.)

mos inducidos por NPA se tratan con auxinas, se reestablece la iniciación de la hoja (Reinhardt y col. 2000).

Otros mecanismos de señalización permanecen sin descubrir. El mecanismo por el que las células se comunican no se ha establecido en otros casos, aunque se cree que la información posicional es intercambiada entre las células de los diferentes tejidos. Tal y como hemos comentado anteriormente, los genes *SHR* y *SCR* son importantes para establecer los patrones radiales de tejidos en las raíces. Codifican factores similares, pero estos genes se expresan y funcionan en tejidos diferentes.

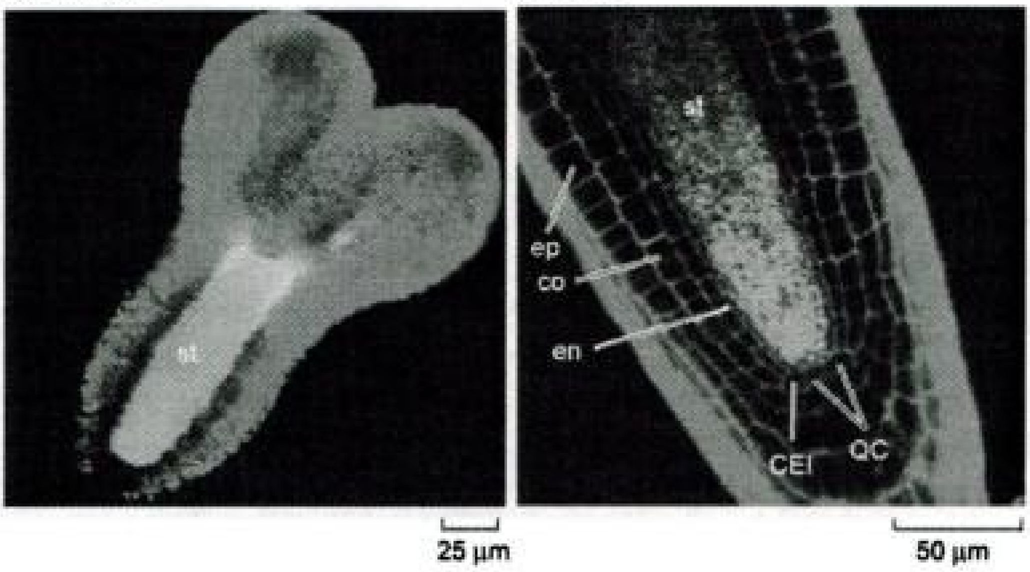
SCR se requiere para las divisiones celulares asimétricas que forman la epidermis y el córtex, y también determina el destino celular de la endodermis. *SCR* se expresa en las células madre que dan lugar al tejido fundamental antes de dividirse asimétricamente para determinar los precursores de la endodermis y del córtex (Figura 16.31A). *SCR* continúa expresándose en la endodermis después de que se dividan las células madre (Figura 16.31B).

La expresión del gen *SCR* requiere la expresión de SHR, pero el gen *SHR* no se expresa ni en el córtex ni en la endodermis. Más bien, el gen *SHR* se expresa en el pe-

Expresión *SHR* del tipo silvestre

(A) Embrión

(B) Raíz



Expresión *SCR*

(C) Raíz tipo silvestre

(D) Raíz del mutante *shr*

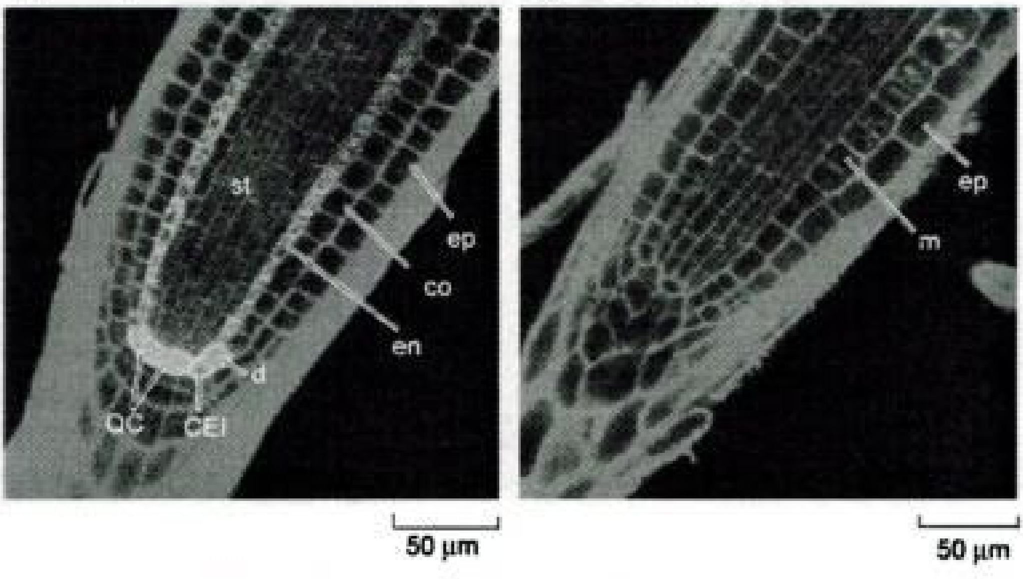


Figura 16.31 Los genes *SHORTROOT* (*SHR*) y *SCARECROW* (*SCR*) en *Arabidopsis* controlan el patrón de tejidos durante el desarrollo radical. Las proteínas SHR y SCR se han localizado por microscopía de barrido láser confocal después de ser marcadas con la proteína fluorescente verde (GFP), que tiene un color verde-amarillento. (A) Durante la embriogénesis en plantas silvestres de *Arabidopsis*, la proteína SHR se localiza en los tejidos provasculares. (B) La proteína SHR continúa estando localizada en el cilindro vascular durante todo el crecimiento de la raíz principal. (C) En raíces tipo silvestre, la proteína SCR está localizada en el centro quiescente, la endodermis y las células madre cortical-endodérmica (CEI). No está presente en el córtex, cilindro vascular, o epidermis. (D) La expresión de *SCR* está marcadamente reducida en las raíces de los mutantes *shr*, y aparece sólo en la capa celular que tiene características de la endodermis y del córtex. CEI = células madre cortical-endodérmica; co = córtex; d = células hijas; en = endodermis; ep = epidermis; m = capa celular mutante; QC = centro quiescente; st = cilindro vascular. (Según Helariutta y col. 2000.) (Véanse las fotografías en color en el CD.)

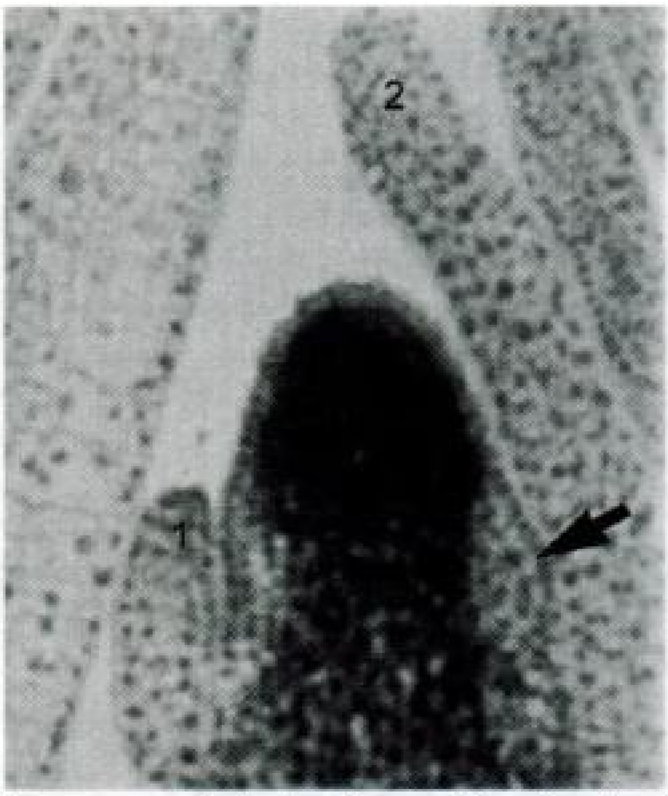


Figura 16.32 El gen *KN1* se expresa en todo el meristemo apical caulinar de maíz, pero no se expresa en la capa L1 o en el primordio foliar. El mRNA de *KN1* se localizó en una sección longitudinal a través del meristemo por hibridación. La flecha señala el sitio previsible para el siguiente primordio foliar (P0); los números 1 y 2 identifican los primordios foliares P1 y P2, respectivamente. (Según Jackson y col. 1994.)

riciclo y en el cilindro vascular (Figura 16.31C) (Helariutta y col. 2000). Esto implica que la expresión del gen *SHR* genera una señal que es recibida por las células madre del tejido fundamental y provoca la expresión del gen *SCR* en estas células. Esto ilustra de nuevo la posible importancia de la señalización célula a célula en la determinación del destino celular y en el desarrollo vegetal. En la actualidad se desconoce cómo tiene lugar esta comunicación.

Señalización por transporte de proteínas reguladoras y/o mRNA. La comunicación simplástica entre las células vegetales se produce a través de los plasmodesmos, conexiones a través de sus paredes celulares (véase el capítulo 1). La mayoría de las células vivas de una planta están conectadas a sus vecinas por los plasmodesmos que atraviesan las paredes celulares adjuntas y proporcionan una cierta continuidad citosólica entre las células. Hay cada vez más evidencias de que las señales intercambiadas a través de los plasmodesmos incluyen proteínas reguladoras y mRNA (Zambryski y Crawford 2000).

La importancia de los plasmodesmos en la comunicación célula a célula durante el desarrollo se ha hecho evidente con el descubrimiento de que el mRNA del gen

KN1 de identidad del meristemo de maíz no se puede detectar en la capa L1 del meristemo apical caulinar vegetativo. El gen *KN1* se expresa sólo en las células de la capa L2. La proteína KN1, no obstante, se detecta en todas las regiones del meristemo apical caulinar, incluida la capa L1. Como la proteína L1 no se sintetiza en la capa L1, debe ser transportada a la capa L1 desde la capa L2, a través de los plasmodesmos que las unen (Figura 16.32) (Lucas y col. 1995).

En *Antirrhinum*, la expresión del gen *FLO* en la capa L1 activa la expresión de los genes de identidad de órgano floral en todas las capas celulares del meristemo (Carpenter y Coen 1995). Aunque son posibles muchas explicaciones para esta relación, una es que la proteína FLO, pasando a través de los plasmodesmos, se dirija a estas otras capas desde las células en las que se sintetiza.

Los virus invaden las plantas y se expanden pasando de célula a célula a través de los plasmodesmos. Sus genomas codifican proteínas llamadas **proteínas de movimiento** que pueden facilitar el movimiento del genoma viral de RNA a través de los plasmodesmos. Es probable que los virus hayan desarrollado un mecanismo que implica la comunicación célula a célula. De momento no está claro por qué el intercambio de información se organizaría de esta manera, pero este tipo de comunicación puede ser un proceso general en el desarrollo vegetal.

ANÁLISIS DEL CRECIMIENTO VEGETAL

¿Cómo crecen las plantas? Esta simple cuestión ha desafiado a los científicos durante más de 150 años. Se forman células nuevas continuamente en los meristemos. Las células aumentan de tamaño lentamente en el meristemo apical y más rápidamente en las regiones subapicales. El aumento de volumen resultante puede oscilar entre unas pocas y hasta 100 veces, dependiendo de las especies y del entorno. Clásicamente, el crecimiento vegetal se ha analizado en términos de número de células o tamaño total (o masa). Sin embargo, estas medidas sólo nos cuentan parte de la historia.

El crecimiento del tejido no es ni uniforme ni al azar. Las células derivadas de los meristemos apicales se expanden en sitios predecibles y de forma específica, y los patrones de expansión en estas regiones subapicales determinan el tamaño y forma del cuerpo vegetal primario. Se cree que el crecimiento total de una planta es la suma de los patrones locales de expansión celular.

El análisis de los movimientos celulares o «elementos de tejido» (y el problema relacionado de la expansión celular) se llama *cinemática*. En esta sección analizaremos las definiciones clásicas del crecimiento, y la más moderna, la aproximación cinemática. Como veremos, la ventaja de la aproximación cinemática es que permite describir los patrones de crecimiento de órganos matemáticamente en términos de patrones de expansión de sus componentes celulares.

El crecimiento vegetal se puede medir de diferentes formas

El crecimiento se define como un aumento irreversible en volumen. El principal componente del crecimiento vegetal es la expansión celular dirigida por la presión de turgencia. Durante este proceso, las células aumentan en volumen varias veces y llegan a estar muy vacuolizadas. Sin embargo, el tamaño no es el único criterio que se usa para medir el crecimiento.

El crecimiento también se mide en términos de variación en peso fresco, es decir, el peso de los tejidos vivos, en intervalos de tiempo determinados. Sin embargo, el peso fresco de las plantas que crecen en suelo puede variar debido a cambios en el estado hídrico, por lo que puede ser un mal indicador del crecimiento real. En estas situaciones, la medida del peso seco suele ser mucho más adecuada.

El número de células es un parámetro común y conveniente para medir el crecimiento de organismos unicelulares como el alga verde *Chlamydomonas* (Figura 16.33). Sin embargo, en plantas multicelulares el número de células puede darnos una medida errónea del crecimiento porque las células pueden dividirse sin aumentar de volumen.

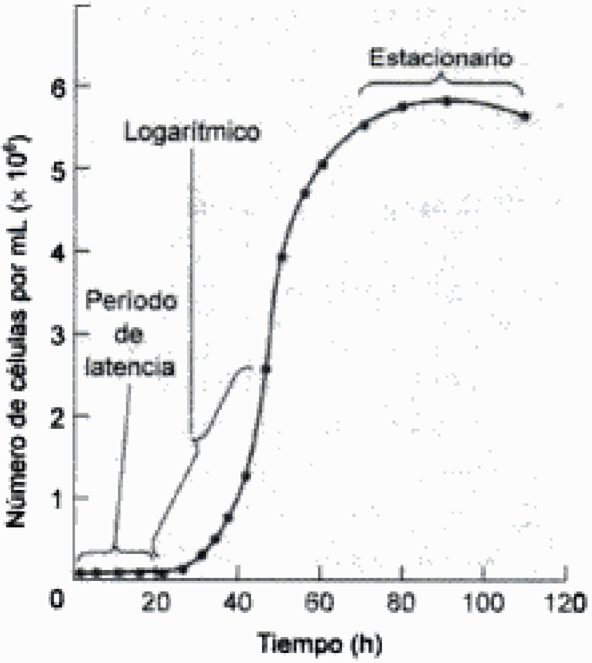


Figura 16.33 Crecimiento del alga verde unicelular *Chlamydomonas*. El crecimiento se valoró contando el número de células por mililitro en tiempos crecientes después de que las células se colocaron en un medio de crecimiento recién preparado. La temperatura, luz y nutrientes aportados fueron los óptimos para el crecimiento. Tras un tiempo de inicial latencia, durante el cual las células pueden sintetizar los enzimas que se requieren para el crecimiento, se produce un período durante el cual el número de células crece exponencialmente. Este período de crecimiento rápido viene seguido por un período de crecimiento lento en el que el número de células aumenta linealmente. Finalmente se llega a la fase estacionaria, en la que el número de células puede mantenerse constante o incluso descender a medida que los nutrientes se agotan en el medio.

Por ejemplo, durante los primeros estadios de embriogénesis, el zigoto se divide en células progresivamente más pequeñas sin que se produzca un aumento neto de tamaño en el embrión. Sólo después de que estas células alcancen el estado de ocho células, el aumento de volumen refleja el aumento del número de células. Como el zigoto es una célula especialmente grande, esta falta de correspondencia entre el aumento del número de células y el crecimiento puede ser inusual, pero refleja el problema potencial de considerar equivalente un aumento en el número de células y el crecimiento.

Aunque el número de células no siempre es una medida fiable del crecimiento vegetal, en la mayoría de las circunstancias las células en división, sobre todo en los meristemos, duplican su volumen durante su ciclo celular. Por tanto, un aumento en el número de células, como el que se produce en el meristemo apical, contribuye al crecimiento vegetal. Sin embargo, el principal componente del crecimiento vegetal es la rápida expansión celular que se produce en la región subapical una vez ha cesado la división celular.

Como todas las células del eje vegetal se alargan en condiciones normales, cuanto mayor sea el número de células producido por el meristemo apical, más largo será el eje. Por ejemplo, en plantas de *Arabidopsis* transformadas con un gen que codifica una ciclina, un componente clave de la maquinaria reguladora del ciclo celular (véase el capítulo 1), las células del meristemo apical progresan a través de sus ciclo celulares más rápidamente, de modo que se forman más células por unidad de tiempo. Como resultado, las raíces de estas plantas transgénicas tienen más células y son más largas que las raíces de las plantas silvestres crecidas en las mismas condiciones (Doerner y col. 1996).

En los meristemos apicales se forman nuevas células continuamente. Con cada nuevo ciclo de división celular y expansión celular, las células derivadas más viejas se desplazan un poco más del ápice. A medida que las células retroceden más lejos del ápice, la tasa de desplazamiento se ve muy incrementada. Considerando el crecimiento vegetal como un proceso de desplazamiento celular desde el ápice, podemos aplicar los principios de la cinemática.

La producción de células por el meristemo es comparable a una fuente

Los fluidos en movimiento, como cascadas, fuentes y las estelas de los barcos, pueden generar formas específicas. El estudio del movimiento de las partículas de fluido y los cambios en la forma que experimentan los fluidos se llama **cinemática**. Las ideas y métodos numéricos usados para estudiar las formas de estos fluidos son útiles para caracterizar el crecimiento meristemático. En ambos casos no se produce un cambio de forma, aunque está compuesto de elementos en movimiento y cambiantes.

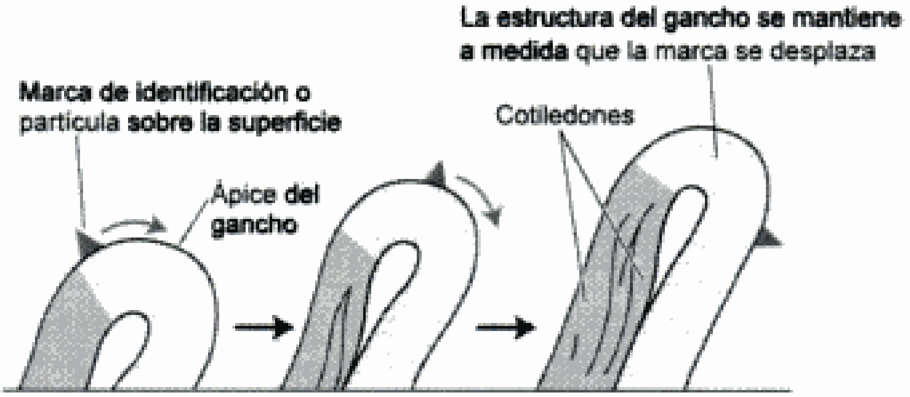

La estructura del gancho se mantiene a medida que la marca se desplaza
Marca de identificación o partícula sobre la superficie
Cotiledones
Ápice del gancho

Figura 16.34 El gancho plumular de dicotiledóneas es un ejemplo de una forma constante compuesta de elementos cambiantes. La forma del gancho se mantiene a lo largo del tiempo, mientras los diferentes tejidos primero se curvan y a continuación se alargan a medida que se desplazan desde el ápice de la plántula durante el crecimiento. Si se coloca una marca en un punto fijo de la superficie, se desplazará (indicado por la flecha), pareciendo que fluya a través del gancho a lo largo del tiempo. (Según Silk 1994.)

Un ejemplo de una forma que no cambia compuesta de elementos que cambian y se desplazan en las plantas es el gancho del hipocotilo de una dicotiledónea como la judía común (Figura 16.34). A medida que la plántula de judía emerge de la cubierta seminal, el extremo apical del hipocotilo se dobla sobre sí mismo para formar un gancho. Se cree que el gancho protege al ápice de la plántula de posibles daños durante el crecimiento a través del suelo. Durante el crecimiento de la plántula (en suelo o en luz débil) el gancho migra por el tallo, subiendo desde el hipocotilo al epicótilo y entonces al primer y segundo entrenudos, pero la forma de gancho permanece constante.

Si marcamos una célula epidérmica específica del tallo de la plántula localizada cerca del ápice de la plántula, podemos ver como se mueve hacia la cima del gancho y entonces hacia la región inferior del gancho (véase la figura 16.34). La marca no es arrastrada por la superficie vegetal; las células vegetales están cementadas entre sí, y no experimentan movimiento relativo durante el desarrollo. El cambio en la posición, en relación al gancho implica que el gancho está formado por una procesión de elementos de tejido, cada uno de los cuales primero se curva y luego se alarga a medida que se desplaza del ápice vegetal durante el crecimiento. La forma estacionaria se produce por un desfile de células cambiantes.

El extremo de la raíz es otro ejemplo de una forma estacionaria formada por elementos de tejido cambiantes. Aquí, también se observa una forma estacionaria cuando se mide la distancia desde la punta de la raíz. La región de división celular ocupa unos 2 mm ápice de la raíz. La zona de elongación se extiende unos 10 mm por encima del extremo de la raíz. El inicio de la diferenciación del floema se observa por primera vez a 3 mm del ápice de la raíz y los elementos funcionales del xilema se pueden detectar a unos 12 mm del extremo. Una célula marcada cerca del ápice, parecerá fluir primero a través de la región de división celular, luego a través de la zona de elongación y a la región de diferenciación del xilema, etc. Este desplazamiento implica que los elementos tisulares en desarrollo primero se dividen y alargan, y finalmente se diferencian.

De forma análoga, el brote muestra una sucesión de hojas en diferentes estados de desarrollo. Durante un período de 24 horas, una hoja puede crecer hasta alcanzar el mismo tamaño, forma y composición bioquímica que su vecina tenía un día antes. Así, la forma del brote se produce también por un desfile de elementos cambiantes que se pueden analizar por cinemática. Este análisis no es meramente descriptivo; permite cálculos de crecimiento y tasas biosintéticas de elementos de tejido individuales (células) en una estructura dinámica.

Los elementos tisulares se desplazan durante la expansión

Como hemos visto, el crecimiento en brotes y raíces está localizado en los ápices o extremos de estos órganos. Las regiones con tejidos en expansión se llaman **zonas de crecimiento**. Con el tiempo, los meristemos se apartan de la base de la planta por el crecimiento de las células de la zona de crecimiento.

Si se colocan marcas sucesivas en el tallo o raíz, la distancia entre las marcas cambiará, dependiendo de dónde están en la zona de crecimiento. Además, todas estas marcas se apartarán del extremo de la raíz o del brote, pero su tasa de movimiento diferirá dependiendo de su distancia al extremo.

Desde otra perspectiva, si te colocaras delante del ápice de una raíz que tiene marcas a intervalos a lo largo del eje, verías que todas las marcas se apartan de ti con el tiempo. La razón es que las regiones discretas del eje vegetal experimentan un desplazamiento así como expansión durante el crecimiento y desarrollo.

A medida que las regiones se alejan del ápice, sus tasas de crecimiento aumentan

A medida que una región del eje de la planta se mueve desde el ápice, su tasa de crecimiento aumenta (la tasa de elongación se acelera) hasta que se alcanza una tasa limitante constante igual a la tasa de extensión del órgano. La razón de este aumento en la tasa de crecimiento es que con el tiempo, se localiza progresivamente más tejido entre la partícula que se mueve y el ápice, y progresivamente más células se expanden, por lo que la partícula se desplaza más y más rápidamente. En una raíz en crecimiento rápido, un elemento de tejido tarda 8 horas en moverse desde los 2 mm (el final de la zona meristemática) a 12 mm (el final de la zona de elongación).

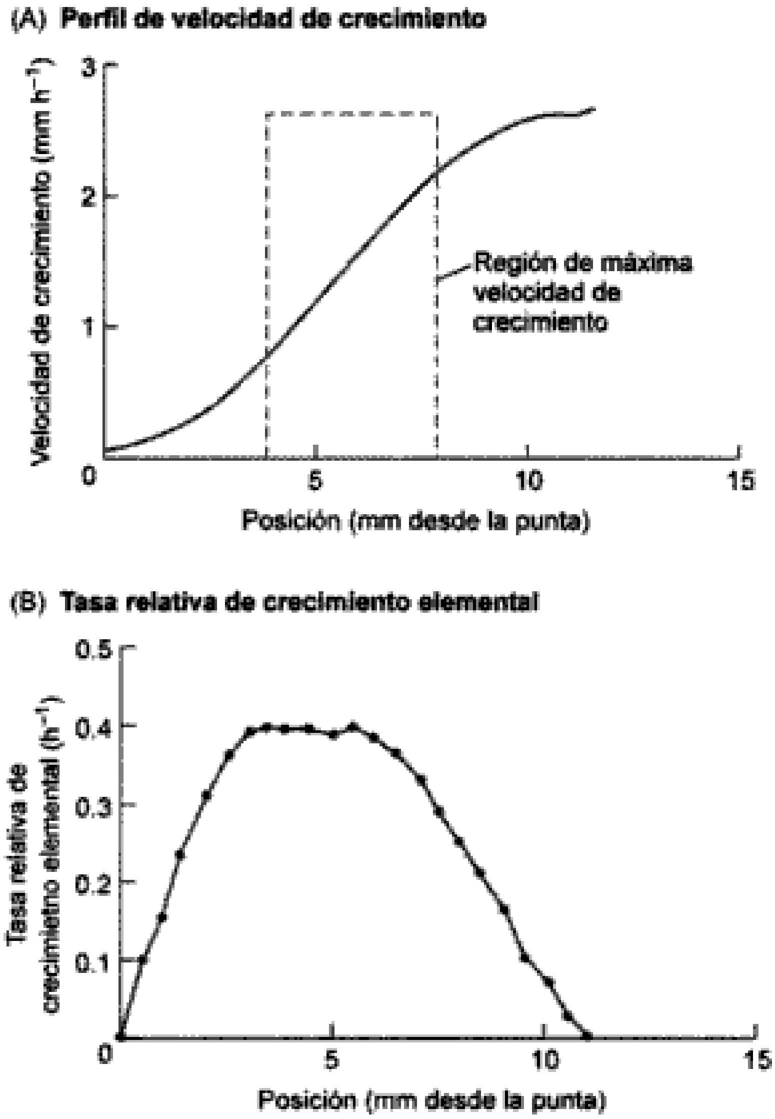


Figura 16.35 El crecimiento de la raíz principal de *Zea mays* (maíz) se puede representar cinemáticamente por dos curvas de crecimiento relacionadas. (A) El perfil de la tasa de crecimiento representa la velocidad de movimiento respecto el ápice de puntos a diferentes distancias del extremo. Esto nos indica que la tasa de crecimiento aumenta con la distancia al extremo hasta que alcanza una velocidad uniforme igual a la tasa de elongación de la raíz. (B) La tasa de crecimiento elemental relativa nos indica la velocidad de expansión de cualquier punto concreto de la raíz. Esta es la medida más útil para los fisiólogos porque nos dice dónde se localizan las regiones que se expanden más rápidamente. (Según Silk 1994.)

Más allá de la zona de crecimiento, los elementos no se separan; los elementos vecinos tienen la misma tasa (expresada como cambio en la distancia al extremo por unidad de tiempo) y la tasa a la que las partículas se desplazan desde el extremo es la misma que la tasa a la que el ápice se mueve a través del suelo. El ápice de la raíz de maíz es empujado a través del suelo a 3 mm h^{-1}. Esta es también la tasa de crecimiento a la que las regiones que no están en crecimiento retroceden del ápice, y es igual a la pendiente final de la trayectoria de crecimiento.

El comportamiento de la tasa de crecimiento es una descripción espacial del crecimiento

Las velocidades de los diferentes elementos de tejido se representan respecto a sus distancias desde el ápice para dar un patrón espacial de la tasa de crecimiento, o **perfil de tasa de crecimiento** (Figura 16.35A). La tasa de crecimiento aumenta con la posición en la zona de crecimiento. Se obtiene un valor constante en la base de la zona de crecimiento. La tasa de crecimiento final es la pendiente constante, final de la trayectoria de crecimiento, igual a la tasa de elongación del órgano, tal y como se analizó en la sección anterior. En la raíz de maíz en crecimiento rápido, la velocidad es de 1 mm h^{-1} a 4 mm y alcanza un valor final cerca de 3 mm h^{-1} a 12 mm.

Si se conoce la tasa de crecimiento, se puede calcular la **tasa de crecimiento elemental relativa**, que representa el cambio parcial en longitud por unidad de tiempo (véase el **tema web 16.4**). La tasa de crecimiento elemental relativa muestra la localización y magnitud de la tasa de extensión y puede ser usada para cuantificar los efectos de la variación del entorno sobre el patrón de crecimiento (Figura 16.35B).

SENESCENCIA Y MUERTE CELULAR PROGRAMADA

Cada otoño, la gente que vive en las regiones templadas puede disfrutar de los bellos cambios de colores que se producen por la pérdida de hoja de los árboles caducifolios. El cambio de color de las hojas debido a los cambios de la longitud del día y de las bajas temperaturas inicia procesos de desarrollo que conducen a la senescencia de la hoja y a su muerte. La senescencia es un proceso diferente a la necrosis, aunque las dos conducen a la muerte. La **necrosis** es la muerte debida a daños físicos, venenos u otras heridas externas. Por el contrario, la **senescencia** es un proceso normal de desarrollo, dependiente de energía, que está controlado por el propio programa genético de la planta. Las hojas están genéticamente programadas para morir, y su senescencia se puede iniciar por factores ambientales.

Como las hojas nuevas se inician desde el meristemo apical del brote, las hojas más viejas están sombreadas y pierden la capacidad para funcionar eficientemente en la fotosíntesis. La senescencia recupera una parte de las fuentes valiosas que la planta ha invertido en la formación de la hoja. Durante la senescencia, los enzimas hidrolíticos degradan muchas proteínas celulares, carbohidratos y ácidos nucleicos. Sus componentes, azúcares, nucleósidos y aminoácidos, son entonces recuperados por la planta a través del floema, donde serán reutilizados en procesos sintéticos. Muchos minerales son también transportados desde los órganos senescentes de vuelta al cuerpo principal de la planta.

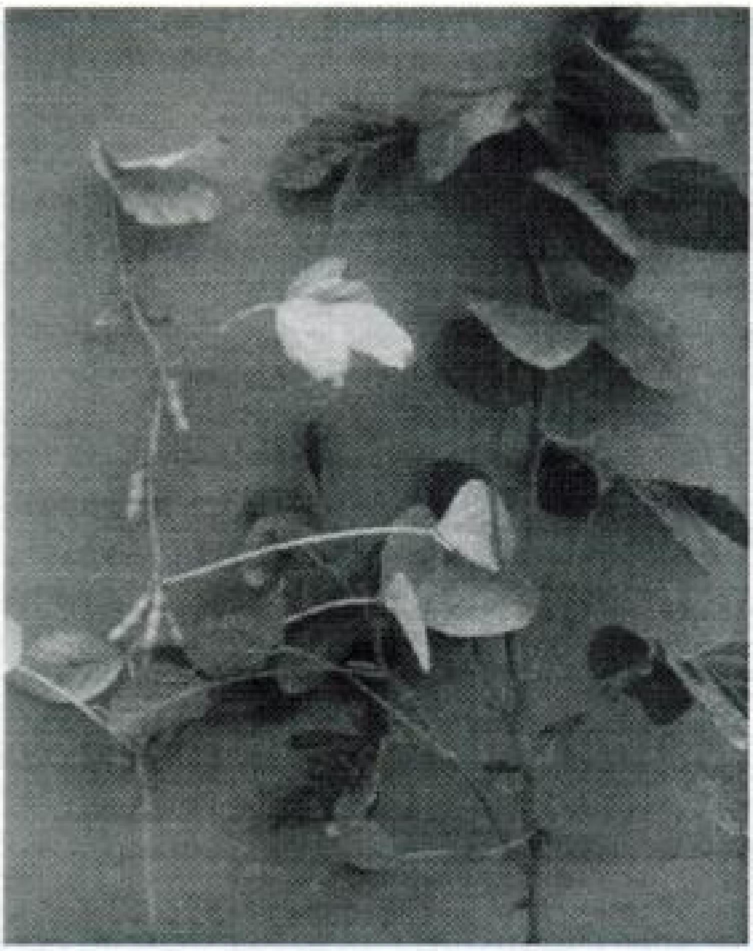


Figura 16.36 Senescencia monocárpica en soja (*Glycine max*). Toda la planta de la izquierda sufrió senescencia tras la floración y producción de fruto (vainas). La planta de la derecha continua verde y vegetativa porque sus flores se están eliminando continuamente. (Cortesía de L. Noodén.)

La senescencia de órganos vegetales está asociada frecuentemente a la **abscisión**, un proceso por el cual células específicas en el pecíolo se diferencia para formar una capa de abscisión, que permite al órgano senescente separarse de la planta. En el capítulo 22 hablaremos más del control de la abscisión por el etileno.

En esta sección examinaremos las funciones de la senescencia y la muerte celular programada en el desarrollo vegetal. Veremos que hay tres tipos de senescencia, cada una con su propio programa genético. En los capítulos 21 y 22, describiremos cómo las citoquininas y el etileno pueden actuar como agentes de señalización que regulan la senescencia vegetal.

Las plantas muestran varios tipos de senescencia

La senescencia se produce en una gran variedad de órganos y en respuesta a muchas situaciones diferentes. Muchas plantas anuales, incluidos los principales culti-

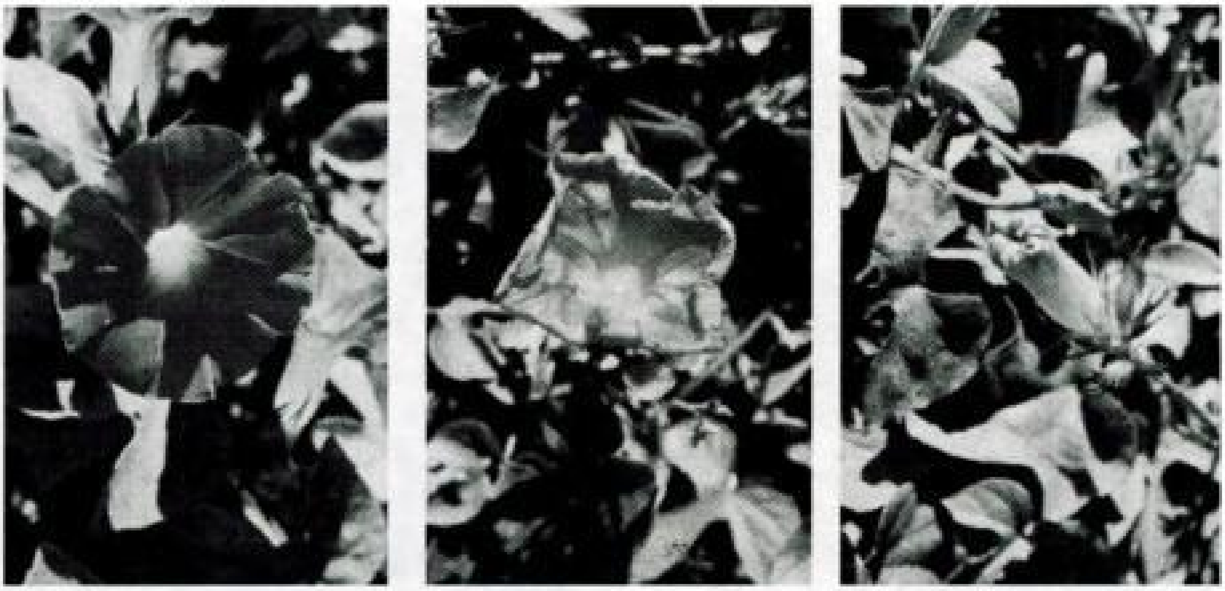


Figura 16.37 Estados de senescencia floral en la campanilla *Ipomoea acuminata* (Cortesía de S. L. Taiz.).

vos vegetales como trigo, maíz y soja, se tornan amarillas bruscamente y mueren después de la producción del fruto, incluso en condiciones óptimas de cultivo. La senescencia de toda la planta después de un único ciclo reproductivo se denomina **senescencia monocárpica** (Figura 16.36).

Otros tipos de senescencia son:

- Senescencia de brotes aéreos en herbáceas perennes
- Senescencia estacional de hojas (en árboles caducifolios)
- Senescencia secuencial de hojas (en la que las hojas mueren cuando han alcanzado una cierta edad)
- Senescencia (maduración) de frutos carnosos; senescencia de frutos secos
- Senescencia de los cotiledones de reserva y órganos florales (Figura 16.37)
- Senescencia de tipos de células especializadas (por ejemplo, tricomas, traqueidas y elementos de los vasos)

El estímulo inicial de los diferentes tipos de senescencia es diferente y puede ser interno, como en la senescencia monocárpica, o externos, como la longitud del día y la temperatura en la senescencia de las hojas en otoño de los árboles caducifolios. Independientemente del estímulo inicial, los diferentes patrones de senescencia pueden compartir programas internos comunes en los que un gen regulador de la senescencia inicie una cascada de expresión génica secundaria que eventualmente lleve a cabo la senescencia y la muerte.

La senescencia es una serie ordenada de acontecimientos citológicos y bioquímicos

Como está genéticamente codificada, la senescencia sigue una serie de acontecimientos predecibles. A nivel citológico, algunos orgánulos son destruidos mientras que otros permanecen activos. El cloroplasto es el primer orgánulo que se deteriora al inicio de la senescencia de la hoja, con la destrucción de los componentes proteicos de los tilacoides y los enzimas del estroma.

A diferencia del rápido deterioro de los cloroplastos, los núcleos permanecen estructural y funcionalmente activos hasta las últimas etapas de la senescencia. Los tejidos senescentes llevan a cabo procesos catabólicos que requieren la síntesis *de novo* de varios enzimas hidrolíticos como proteasas, nucleasas, lipasas y enzimas que degraden las clorofilas. La síntesis de estos enzimas específicos de la senescencia implica la activación de genes específicos.

No sorprende que los niveles de la mayoría de los mRNA de la hoja disminuyan sustancialmente durante la fase de senescencia, aunque aumente la cantidad de mRNA de ciertos transcritos. Los genes cuya expresión disminuye durante la senescencia se denominan **genes regulados negativamente por la senescencia (SDGs)**. Los SDG incluyen genes que codifican proteínas implicadas en la fotosíntesis. Sin embargo, la senescencia implica mucho más que la simple represión de los genes implicados en fotosíntesis.

Los genes cuya expresión se induce durante la senescencia se denominan **genes asociados a la senescencia (SAGs)**. Entre los genes SAG se incluyen los que codifican enzimas hidrolíticos, como proteasas, ribonucleasas y lipasas, así como los enzimas implicados en la síntesis de etileno, como ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico) sintasa y ACC oxidasa. Existen otra clase de SAGs que tienen funciones secundarias en la senescencia. Estos genes codifican enzimas implicados en la conversión o removilización de los productos de degradación, como la glutamina sintetasa, que cataliza la conversión de amonio en glutamina (véase el capítulo 12) y es responsable del reciclado de nitrógeno desde tejidos senescentes.

La muerte celular programada es un tipo especializado de senescencia

La senescencia se puede producir a nivel de toda la planta, como en la senescencia monocárpica; a nivel de órgano, como la senescencia de hojas; a nivel celular, como en la diferenciación de los elementos traqueales. El proceso por el que células individuales activan un programa de senescencia intrínseco se llama **muerte celular programada (PCD)**. La PCD juega un papel importante en el desarrollo animal, en el que los mecanismos moleculares han sido extensamente estudiados. La PCD se puede iniciar por señales específicas, como errores en la replicación del DNA durante la división e implica la expresión de un grupo característico de genes. La expresión de estos genes provoca la muerte celular. Se conoce muy poca sobre la PCD en plantas (Pennell y Lamb 1997).

La PCD en animales suele ir acompañada de cambios morfológicos y bioquímicos característicos, llamados **apoptosis** (de la palabra griega que significa «caer» como las hojas en otoño). Durante la apoptosis, el núcleo de la célula se condensa y el DNA nuclear se fragmenta según un patrón específico provocado por la degradación del DNA entre nucleosomas (véase el capítulo 2 en la página web).

Algunas plantas, particularmente en tejidos senescentes, muestran cambios citológicos similares. La PCD parece iniciarse durante la diferenciación de los elementos traqueales del xilema, cuando el núcleo y la cromatina se degradan y el citoplasma comienza a desaparecer. Estos cambios dan lugar a la activación de genes que codifican nucleasas y proteasas.

Una de las funciones importantes de la PCD en plantas es la protección frente a organismos patogénos. Cuando un organismo patógeno infecta una planta, las señales que envía el patógeno provocan que las células vegetales en el sitio de la infección acumulen rápidamente altas concentraciones de compuestos fenólicos tóxicos y mueran. Las células que mueren forman así una pequeña zona circular de células muertas llamada **lesión necrótica**.

La lesión necrótica aísla y evita que la infección se extienda a los tejidos sanos de alrededor, al rodear al patógeno con un ambiente tóxico y agotado nutricionalmente. Esta muerte celular localizada y rápida debida al ataque del patógeno se llama **respuesta hipersensible** (véase el capítulo 13).

La existencia de mutantes de *Arabidopsis* que pueden mimetizar el efecto de la infección e iniciar la cascada de acontecimientos que conducen a la formación de lesiones necróticas, incluso en ausencia del patógeno, ha demostrado que la respuesta hipersensible es un proceso genéticamente programado, y no una simple necrosis.

RESUMEN

El cuerpo básico de una planta madura se establece durante la embriogénesis. En este proceso, los tejidos se ordenan radialmente: una capa exterior epidérmica rodea un tejido vascular que está embebido en tejido cortical o fundamental. El patrón apical-basal de la planta madura, con los ejes polares de la raíz y el brote, también se establece durante la embriogénesis, dado que son los meristemos primarios a partir de los cuales se generará una planta adulta.

Un tipo común de desarrollo embrionario en angiospermas, como es el caso de *Arabidopsis thaliana*, se caracteriza por patrones precisos de divisiones celulares, generando estados sucesivos: globular, corazón, torpedo y de maduración. El patrón axial del cuerpo queda establecido en la primera división del zigoto, y los genes mutantes eliminan parte del embrión. El patrón radial de tejidos se establece durante el estado globular, aparentemente como resultado de la expresión de genes que controlan la identidad celular. El gen *SHORTMERISTEMLESS* (*STM*) se expresa en las regiones que dan lugar al meristemo apical caulinar durante el estado corazón de la embriogénesis, y su expresión continuada impide la diferenciación de las células del meristemo apical caulinar. El gen *GNOM* se necesita para el establecimiento de la polaridad axial, y el gen *MONOPTEROS* se requiere para la formación de la raíz principal embrionaria así como para el desarrollo vascular.

En la actualidad no es posible una completa explicación de los mecanismos responsables del establecimiento y mantenimiento de estos patrones, pero hay evidencias de que la asociación de los microtúbulos y las microfilamentos conocida como banda preprofásica es importante para determinar el plano de división celular. La diferenciación celular no depende de la línea celular; no obstante, la división de las células madre es esencial en este proceso. La expresión del gen *SCR* (*SCARECROW*), que ha sido clonado y codifica una nueva proteína, es necesaria para la división de las células madre, y el gen *SHR* (*SHORTROOT*) se debe expresar para el establecimiento de la identidad endodérmica celular.

Los meristemos son poblaciones de células pequeñas isodiamétricas que tienen características «embrionarias». Los meristemos vegetativos generan partes específicas del cuerpo vegetal y pueden regenerarse a sí mismos. En muchas plantas, los meristemos apicales radicales y caulinares son capaces de crecer indefinidamente.

El meristemo apical del brote genera órganos laterales (hojas y yemas laterales) de forma repetitiva, así como segmentos del tallo. Los meristemos apicales caulinares en angiospermas están organizados en tres capas distintas, designadas como L1, L2 y L3.

Los meristemos apicales caulinar y radical son meristemos primarios formados durante la embriogénesis. Los meristemos secundarios se inician durante el desarrollo postembrionario e incluyen el cambium vascular, el cambium suberógeno, los meristemos axilares, y los meristemos radicales secundarios.

La actividad repetitiva del meristemo apical caulinar vegetativo genera una sucesión de unidades de desarrollo, llamadas fitómeros, cada una de las cuales consta de una o más hojas, de un nudo, un entrenudo y una o más yemas axilares. El meristemo apical caulinar vegetativo es indeterminado en su actividad y puede funcionar indefinidamente, pero da lugar a un primordio foliar que tiene un crecimiento determinado.

Las hojas se forman con un patrón característico, en tres etapas: (1) organogénesis, (2) desarrollo de los dominios de subórganos, (3) diferenciación celular y tisular. El número y orden en el que el primordio foliar se forma se refleja en la subsiguiente filotaxis (alternante, opuesta, decusada, verticilada y en espiral). El primordio foliar debe posicionarse como resultado de la precisa regulación espacial de las divisiones celulares en el ápice, pero los factores que controlan esta actividad son desconocidos.

Las raíces crecen desde sus extremos distales. El meristemo apical de la raíz es subterminal y cubierto por una cofia. Las divisiones celulares en el ápice de la raíz generan hileras de células que posteriormente se alargan y diferencian para adquirir una función especializada. En la raíz se reconocen cuatro zonas de desarrollo: la cofia, la zona meristemática, la zona de elongación y la zona de maduración. En *Arabidopsis*, las hileras de células maduras se pueden seguir desde las células madre en la población de células del meristemo. El meristemo apical radical de *Arabidopsis* consta de un centro quiescente, células madre corticales-endodérmicas, células madre de la columela, células madre de la cofia-epidermis y células madre del cilindro vascular.

La diferenciación es el proceso por el que las células adquieren propiedades metabólicas, estructurales y funcionales diferentes de las de sus progenitores. La diferenciación de los elementos traqueales es un ejemplo de la diferenciación celular vegetal. Los microtúbulos participan en la determinación del patrón a partir del cual las microfibrillas de celulosa se depositan en las paredes secundarias de los elementos traqueales.

Los genes MADS box son reguladores clave de funciones biológicas importantes en plantas, animales y hongos. Los genes homeobox codifican proteínas homeodominio que actúan como factores de transcripción. Estos factores de transcripción controlan la expresión de otros genes cuyos productos transforman y caracterizan la célula diferenciada.

En la determinación del destino de una célula, la posición de la célula es más importante que su linaje. El destino celular vegetal es relativamente flexible y puede cambiarse cuando se alteran las señales posicionales necesarias para su mantenimiento.

La expresión de los genes homeobox similares a los genes *KNOTTED1* y *SHOR-MERISTEMLESS* de maíz es necesaria para el carácter indeterminado continuado del meristemo apical caulinar, pero el gen *WUSCHEL* determina la identidad de las células madre. La pérdida de la expresión de los genes *KNOX* en el primordio foliar parece ser importante para la determinación del crecimiento en estas estructuras.

La posición celular se comunica vía célula a célula, y puede implicar señalización dependiente de ligando, señalización hormonal o tráfico de proteínas reguladoras y/o mRNA a través de los plasmodesmos. Las moléculas con tamaño hasta 1,6 nm (700-1000 KDa) pueden pasar de célula a célula a través de los plasmodesmos que conectan las células epidérmicas de la hoja. Los plasmodesmos son, en cierto sentido, las puertas cuyo paso puede ser regulado, de forma que pueden modificar el límite de exclusión del tamaño para permitir el paso de moléculas mucho mayores, como los virus.

El crecimiento de las plantas se define como un aumento irreversible en volumen. El crecimiento vegetal se puede analizar por cinemática, el estudio del movimiento de una partícula y su cambio de forma.

El crecimiento vegetal puede describirse en términos espaciales y materiales. Las descripciones espaciales se centran en los patrones generados por todas las células localizadas en diferentes posiciones en las zonas de crecimiento. Los análisis materiales se centran en el destino de células individuales o elementos de tejido en varios estados de desarrollo. Una trayectoria de crecimiento muestra la distancia de un elemento de tejido desde el ápice con el tiempo y es, por tanto, una descripción material del crecimiento. La tasa de crecimiento es la velocidad a la que los elementos de los tejidos se desplazan desde el ápice. La tasa de crecimiento elemental relativa es una medida del aumento parcial de la longitud del eje por unidad de tiempo y representa la magnitud del crecimiento en una localización determinada.

La senescencia y la muerte celular programada son aspectos esenciales del desarrollo vegetal. Las plantas muestran una gran variedad de diferentes fenómenos de senescencia. Las hojas están genéticamente programadas a sufrir senescencia y morir. La senescencia es un proceso de desarrollo activo que está controlado por el programa genético de la planta y se inicia por cambios específicos en el ambiente o en el desarrollo.

La senescencia es una serie ordenada de acontecimientos citológicos y bioquímicos. La expresión de la mayoría de los genes se reduce durante la senescencia, aunque se inicia la expresión de algunos genes (genes asociados a la senescencia, SAGs). Estos genes activados codifican varios enzimas hidrolíticos, como proteasas, ribonucleasas, lipasas y enzimas implicados en la biosíntesis de etileno, que llevan a cabo los procesos degradativos de los tejidos.

La muerte celular programada (PCD) es un tipo especializado de senescencia. Una función importante de la PCD en las plantas es la protección contra los organismos patógenos, llamada respuesta hipersensible, y se ha demostrado que es un proceso genéticamente programado.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

16.1 Polaridad de los zigotos de *Fucus*

Una gran variedad de gradientes externos pueden polarizar el crecimiento de las células que son inicialmente apolares.

16.2 La banda preprofásica de microtúbulos

Los estudios ultraestructurales han determinado la estructura de la banda preprofásica de microtúbulos y su función en la orientación del plano de división celular.

16.3 El desarrollo de la raíz de *Azolla*

Estudios anatómicos de raíz del helecho de agua, *Azolla*, han aportado pistas sobre el destino de la célula durante el desarrollo radical.

16.4 La tasa de crecimiento elemental relativa

La tasa de crecimiento elemental relativa en varios puntos a lo largo de una raíz puede evaluarse por la diferenciación de la tasa de crecimiento respecto a la posición.

ENSAYOS WEB

16.1 Los meristemos vegetales: Una visión histórica

Los científicos han usado muchas aproximaciones para descubrir los secretos de los meristemos.

16.2 Acetabularia o sombrerillos verdes

El alga marina verde, *Acetabularia acetabulum*, ocupa un lugar destacado en la historia de la biología.

16.3 La determinación de los planos de división en las células vegetales

Las células vegetales parecen utilizar diferentes mecanismos de los que usan otros eucariotas para controlar sus planos de división.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Assaad F., Mayer U., Warner G. y Jürgens G. 1996. The *KEULE* gene is involved in cytokinesis in *Arabidopsis. Mol. Gen. Genet.* 253: 267–277.

Berleth T. y Jürgens G. (1993) The role of the *MONOPTEROS* gene in organising the basal body region of the *Arabidopsis* embryo. *Development* 118: 575–587.

Bowman J. L. y Eshed Y. (2000) Formation and maintenance of the shoot apical meristem. *Trends Plant Sci.* 5: 110–115.

Brand U., Fletcher J. C., Hobo M., Meyerowitz E. M. y Simon R. (2000) Dependence of stem cell fate in *Arabidopsis* on a feedback loop regulated by *CLV3* activity. *Science* 289: 617–619.

Byrne M. E., Barley R., Curtis M., Arroyo J. M., Dunham M., Hudson A. y Martienssen R. (2000) Asymmetric leaves1 mediates leaf patterning and stem cell function in *Arabidopsis*. *Nature* 408: 967–971.

Carpenter R. y Coen E. S. (1995) Transposon induced chimeras show that floricaula, a meristem identity gene, acts non-autonomously between cell layers. *Development* 121: 19–26.

Chen J.-G., Ullah H., Young J. C., Sussman M. R. y Jones A. M. (2001) ABP1 is required for organized cell elongation and division in *Arabidopsis* embryogenesis. *Genes Dev.* 15: 902–911.

Christensen D. y Weigel D. (1998) Plant development: The making of a leaf. *Curr. Biol.* 8: R643–645.

Clark S. E. (2001) Cell signaling at the shoot meristem. *Nature Rev. Mol. Cell. Biol.* 2: 276–284.

Clark S. E., Running M. P. y Meyerowitz E. M. (1993) *CLAVATA1*, a regulator of meristem and flower development in *Arabidopsis*. *Development* 119: 397–418.

Di Laurenzio L., Wysocka-Diller J., Malamy J. E., Pysh L., Helariutta Y., Freshour G., Hahn M. G., Fledman K. A. y Benfey P. N. (1996) The *SCARECROW* gene regulates an asymmetric cell division that is essential for generating the radial organization of the *Arabidopsis* root. *Cell* 86: 423–433.

Doebley J. y Lukens L. (1998) Transcriptional regulators and the evolution of plant form. *Plant Cell* 10: 1075–1082.

Doerner P., Jorgensen J.-E., You R., Steppuhn J. y Lamb C. (1996) Control of root growth and development by cyclin expression. *Nature* 380: 520–523.

Fletcher J. C. y Meyerowitz E. M. (2000) Cell signaling within the shoot meristem. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3: 23–30.

Fletcher J. C., Brand U., Running M. P., Simon R. y Meyerowitz E. M. (1999) Signaling of cell fate decisions by *CLAVATA3* in *Arabidopsis* shoot meristems. *Science* 283: 1911–1914.

Fukuda H. (1996) Xylogenesis: Initiation, progression and cell death. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 299–325.

Grebe M., Gadea G., Steinmann T., Kientz M., Rahfeld J.-U., Salchert K., Koncz C. y Jürgens G. (2000) A conserved domain of the *Arabidopsis* GNOM protein mediates subunit interaction and cyclophilin 5 binding. *Plant Cell* 12: 343–356.

Hake S., Vollbrecht E. y Freeling M. (1989) Cloning *KNOTTED*, the dominant morphological mutant in maize using Ds2 as a transposon tag. *EMBO J.* 8: 15–22.

Hardham A. R. y Gunning B. E. S. (1979) Interpolation of microtubules into cortical arrays during cell elongation and differentiation in roots of *Azolla pinnata*. *J. Cell Sci.* 37: 411–442.

Hardham A. R. y Gunning B. E. S. (1980) Some effects of colchicine on microtubules and cell division of *Azolla pinnata*. *Protoplasma* 102: 31–51.

Hardtke C. y Berleth T. (1998) The *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* encodes a transcription factor mediating embryo axis formation and vascular development. *EMBO J.* 17: 1405–1411.

Helariutta Y., Fukaki H., Wysocka-Diller J., Nakajima K., Sena G., Hauser M.-T. y Benfey P. N. (2000) The *SHORT-ROOT* gene controls radial patterning of the *Arabidopsis* root through radial signaling. *Cell* 10: 555–567.

Hepler P. K. (1981) Morphogenesis of tracheary elements and guard cells. En *Cytomorphogenesis in Plants*, O. Kiermayer, ed., Springer, Berlin, págs. 327–347.

Jackson D., Veit B. y Hake S. (1994) Expression of maize KNOTTED1 related homeobox genes in the shoot apical meristem predicts patterns of morphogenesis in the vegetative shoot. *Development* 120: 405–413.

Laux T., Mayer Klaus F. X., Berger J. y Jürgens G. (1996) The *WUSCHEL* gene is required for shoot and floral meristem integrity in *Arabidopsis*. *Development* 122: 87–96.

Lincoln C., Long J., Yamaguchi J., Serikawa K. y Hake S. (1994) A *knotted1*-like homeobox gene in *Arabidopsis* is expressed in the vegetative meristem and dramatically alters leaf morphology when overexpressed in transgenic plants. *Plant Cell* 6: 1859–1876.

Long J. A., Moan E. I., Medford J. I. y Barton M. K. (1996) A member of the KNOTTED class of homeodomain proteins encoded by the *STM* gene of *Arabidopsis*. *Nature* 379: 66–69.

Lotan T., Ohto M.-A., Yee K. M., West M. A., Lo R., Kwong R. W., Yamagishi K., Fisher R. L. y Goldberg R. B. (1998) *Arabidopsis LEAFY COTYLEDON1* is sufficient to induce embryo development in vegetative cells. *Cell* 93: 1195–1205.

Lucas W. J., Bouche-Pillon S., Jackson D. P., Nguyen L., Baker L., Ding B. y Hake S. (1995) Selective trafficking of KNOTTED1 homeodomain protein and its mRNA through plasmodesmata. *Science* 270: 1980–1983.

Lukowitz W., Mayer U. y Jürgens G. (1996) Cytokinesis in the *Arabidopsis* embryo involves the syntaxin-related *KNOLLE* gene product. *Cell* 84: 61–71.

Malamy J. E. y Benfey P. N. (1997) Organization and cell differentiation in lateral roots of *Arabidopsis thaliana*. *Development* 124: 33–44.

Mayer U., Buettner G. y Jürgens G. (1993) Apical-basal pattern formation in the *Arabidopsis* embryo: Studies on the role of the gnom gene. *Development* 117: 149–162.

Nishimura A., Tamaoki M., Sato Y. y Matsuoka M. (1999) The expression of tobacco *knotted1*-type homeobox genes corresponds to regions predicted by the cytohistological zonation model. *Plant J.* 18: 337–347.

Ori N., Eshed Y., Chuck G., Bowman J. L. y Hake S. (2000) Mechanisms that control *knox* gene expression in the *Arabidopsis* shoot. *Development* 127: 5523–5532.

Pennell R. I. y Lamb C. (1997) Programmed cell death in plants. *Plant Cell* 9: 1157–1168.

Przemeck G. K. H., Mattsson J., Hardtke C. S., Sung Z. R. y Berleth T. (1996) Studies on the role of the *Arabidopsis* gene *MONOPTEROS* in vascular development and plant cell axialization. *Planta* 200: 229–237.

Reinhardt D., Mandel T. y Kuhlemeier C. (2000) Auxin regulates the initiation and radial position of plant lateral organs. *Plant Cell* 12: 507–518.

Riechmann J. L. y Meyerowitz E. M. (1997) MADS domain proteins in plant development. *Biol. Chem.* 378: 1079–1101.

Riechmann J. L., Herd J., Martin G. Reuber L., Jiang C. Z., Keddie J., Adam L., Pineda O., Ratcliffe O. J., Samaha R. R., Creelman R., Pilgrim M., Broun P., Zhang J. Z., Ghandelhari D., Sherman B. K. y Yu G.-L. (2000) *Arabidopsis* transcription factors: Genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science* 290: 2105–2110.

Scheres B. (2001) Plant cell identity. The role of position and lineage. *Plant Physiol.* 125: 112–114.

Scheres B., Di Laurenzio L., Willemsen V., Hauser M.-T., Janmaat K., Weisbeek P. y Benfey P. N. (1995) Mutations affecting the radial organisation of the *Arabidopsis* root display specific defects throughout the embryonic axis. *Development* 121: 53–62.

Schiefelbein J. W., Masucci J. D. y Wang H. (1997) Building a root: The control of patterning and morphogenesis during root development. *Plant Cell* 9: 1089–1098.

Shiu S. H. y Bleecker A. B. (2001) Receptor-like kinases from *Arabidopsis* form a monophyletic gene family related to animal receptor kinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 10763–10768.

Silk W. K. (1994) Kinematics and dynamics of primary growth. *Biomimetics* 2: 199–213.

Sinha N. (1999) Leaf development in angiosperms. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 419–446.

Sinha N., Hake S. y Freeling M. (1993a) Genetic and molecular analysis of leaf development. *Curr. Top. Dev. Biol.* 28: 47–80.

Sinha N. R., Williams R. E. y Hake S. (1993b) Overexpression of the maize homeo box gene, *KNOTTED*-1, causes a switch from determinate to indeterminate cell fates. *Genes Dev.* 7: 787–795.

Steinmann T., Geldner N., Grebe M., Mangold S. A., Jackson C. L., Paris S., Galweiler L., Palme K. y Jürgens G. (1999) Coordinated polar localization of auxin efflux carrier PIN1 by GNOM ARF GEF. *Science* 286: 316–318.

Torres-Ruiz R. A. y Jürgens G. (1994) Mutations in the *FASS* gene uncouple pattern formation and morphogenesis in *Arabidopsis* development. *Development* 120: 2967–2978.

Traas J., Bellini C., Nacry P., Kronenberger J., Bouchez D. y Caboche M. (1995) Normal differentiation patterns in plants lacking microtubular preprophase bands. *Nature* 375: 676–677.

Van Den Berg C., Willemsen V., Hage W., Weisbeek P. y Scheres B. (1995) Cell fate in the *Arabidopsis* root meristem determined by directional signaling. *Nature* 378: 62–65.

Vernoux T., Kronenberger J., Grandjean O., Laufs P. y Traas J. (2000) *PIN-FORMED1* regulates cell fate at the periphery of the shoot apical meristem. *Development* 127: 5157–5165.

Weigel D. y Jürgens G. (2002) Stem cells that make stems. *Nature* 415: 751–754.

West M. A. L. y Harada J. J. 1993. Embryogenesis in higher plants: An overview. *Plant Cell.* 5: 1361–1369.

Willemsen V., Wolkenfelt H., de Vrieze G., Weisbeek P. y Scheres B. (1998) The *HOBBIT* gene is required for formation of the root meristem in the *Arabidopsis* embryo. *Development* 125: 521–531.

Zambryski P. y Crawford K. (2000) Plasmodesmata: Gatekeepers for cell-to-cell transport of developmental signals in plants. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16: 393–421.

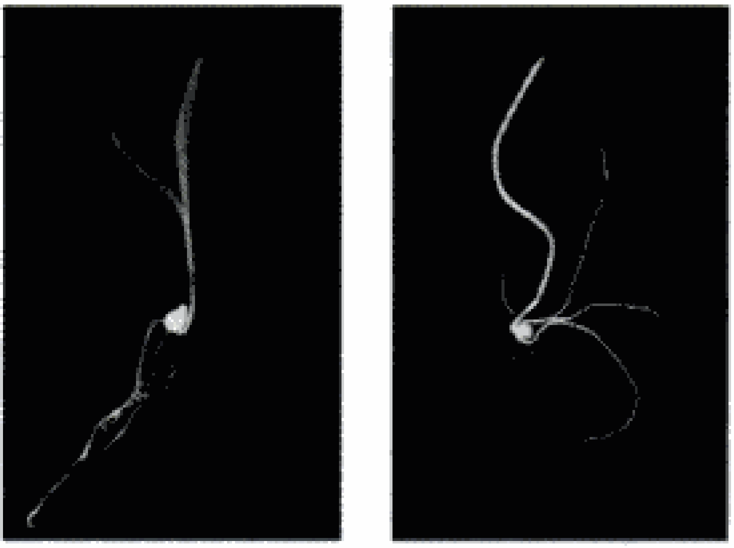
Capítulo 17

EL FITOCROMO Y EL CONTROL POR LA LUZ DEL DESARROLLO VEGETAL

SI CUBRIMOS UNA SUPERFICIE de césped durante unas semanas, al descubrirla observaremos que la hierba que crecía debajo está mucho más pálida y espigada que el césped de alrededor. La diferencia estriba en que el césped debajo de la tabla ha crecido en oscuridad. Las plántulas crecidas en oscuridad tienen coloración pálida, de mayor longitud y de aspecto espigado. Esta forma de crecimiento, llamado **crecimiento etiolado,** es drásticamente diferente de la apariencia verde y vigorosa de las plántulas que han crecido en presencia de luz (Figura 17.1).

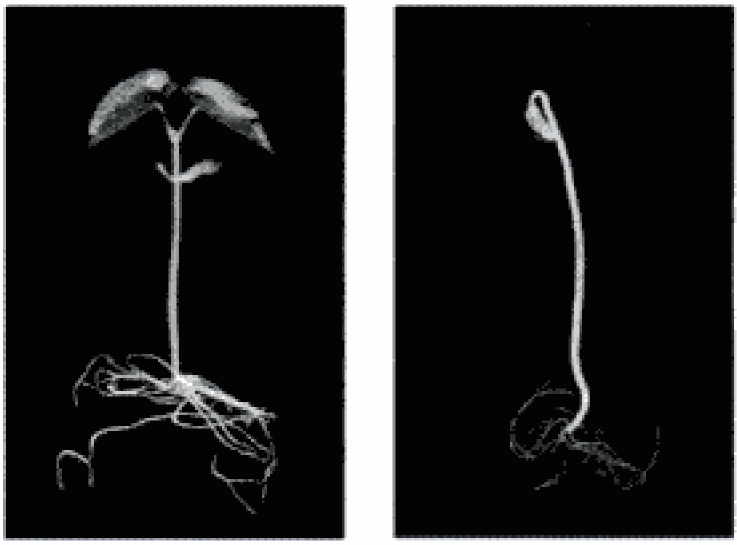
Como la fotosíntesis tiene un papel clave en el metabolismo vegetal, podríamos pensar que este contraste es debido a diferencias en la disponibilidad de energía metabólica derivada de la luz. Sin embargo, se requiere poca luz o poco tiempo para inducir la transformación del estado etiolado al verde. Por lo tanto, en el cambio del crecimiento en oscuridad a luz, la luz actúa más como un iniciador del desarrollo que como una fuente directa de energía. Si quitásemos la tabla y expusiéramos la franja de césped de color pálido a la luz, alcanzaría la misma apariencia que el césped verde de su alrededor en aproximadamente una semana. Aunque no son visibles al ojo, los cambios en la planta se inician casi inmediatamente tras la exposición de la planta a la luz. Por ejemplo, después de horas de aplicación de un único destello de luz relativamente débil a una plántula de guisante que ha crecido en oscuridad en el laboratorio, se pueden detectar diversos cambios en el desarrollo: un descenso en la tasa de elongación del tallo, el inicio de la curvatura del gancho plumular y el inicio de la síntesis de los pigmentos característicos de las plantas verdes.

La luz actúa como una señal para inducir el cambio en la forma de las plántulas, de una que crece bajo el suelo a una que está más adaptada al crecimiento sobre él. En ausencia de luz, las plántulas emplean fundamentalmente las reservas almacenadas en las semillas para el crecimiento etiolado. Sin embargo, las plantas, incluidas las herbáceas, no almacenan suficiente energía en las semillas como para mantener



(A) Maíz que crece con luz

(B) Maíz que crece en oscuridad



(C) Guisante que crece con luz

(D) Guisante que crece en oscuridad

Figura 17.1 Plántulas de maíz (*Zea mays*) (A y B) y guisante (*Phaseolus vulgaris*) (C y D) que han crecido con luz blanca continua (A y C) o en oscuridad (B y D). Los síntomas de la etiolación en maíz, una monocotiledónea, incluyen ausencia de color verde, reducción del tamaño de las hojas, problemas en el despliegue de las hojas, y elongación del hipocotilo y mesocotilo. En guisante, una dicotiledónea, los síntomas de la etiolación incluyen la ausencia de color verde, reducción del tamaño de las hojas, elongación del hipocotilo y el mantenimiento del gancho apical. (Fotos © M. B. Wilkins).(Véanse las fotografías en color en el CD)

el crecimiento indefinidamente. Necesitan energía luminosa no sólo para suministrar energía a la fotosíntesis, sino para iniciar también el cambio en el desarrollo del crecimiento de oscuridad a luz.

La fotosíntesis no puede ser la fuerza motora de esta transformación porque las clorofilas no están presentes en este momento. La desetiolación completa requiere algo de fotosíntesis, pero los rápidos cambios iniciales son inducidos por una respuesta diferenciada a la luz llamada **fotomorfogénesis** (del latín, «inicio de la forma luminosa»).

Entre los diferentes pigmentos que pueden promover las respuestas morfogénicas en las plantas, los más importantes son los que absorben luz del azul y del rojo. Los fotorreceptores de la luz del azul se analizarán en relación a las células guarda y al fototropismo en el capítulo 18. El objeto de este capítulo será el **fitocromo**, una proteína pigmento que absorbe mayoritariamente la luz del rojo y del rojo lejano, pero que también absorbe luz del azul. Como veremos en este capítulo y en el capítulo 24, el fitocromo juega un papel clave en el desarrollo vegetativo y reproductivo regulado por la luz.

Comenzaremos por el descubrimiento del fitocromo y del fenómeno de fotorreversibilidad del rojo/rojo lejano. A continuación analizaremos las propiedades bioquímicas y fotoquímicas del fitocromo y los cambios conformacionales inducidos por la luz. Los diferentes tipos de fitocromo son codificados por diferentes miembros de una familia multigénica, y diferentes fitocromos regulan diferentes procesos en la planta. Las diferentes respuestas del fitocromo se pueden clasificar de acuerdo a la cantidad y calidad de luz necesaria para producir el efecto. Finalmente, analizaremos lo que se sabe del mecanismo de acción del fitocromo a nivel celular y molecular, incluyendo las rutas de transducción de señal y la regulación génica.

LAS PROPIEDADES FOTOQUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS DEL FITOCROMO

El fitocromo, una proteína pigmento azul con una masa molecular de 125 kDa (kilodaltons), no fue identificado químicamente hasta 1959, debido fundamentalmente a las dificultades técnicas para aislar y purificar la proteína. Sin embargo, la mayoría de las propiedades biológicas del fitocromo se habían determinado previamente en estudios con plantas completas.

Las primeras pistas que implicaban al fitocromo en el desarrollo vegetal surgieron de los estudios que se iniciaron en la década de 1930 sobre las respuestas morfogénicas inducidas por la luz del rojo, especialmente durante la germinación. Ahora la lista de estas respuestas es enorme e incluye una o más respuestas en casi todos los estadios de la vida vegetal de una gran variedad de diferentes plantas verdes (Tabla 17.1).

Un momento crucial en la caracterización del fitocromo fue el descubrimiento de la reversibiliad de los efectos morfogénicos de la luz del *rojo* (650-680 nm) tras la irradiación con la del *rojo lejano*, de longitudes de onda superiores (710-740 nm). Este fenómeno fue demostrado primero en la germinación de semillas, aunque también se describió en el crecimiento de tallos y hojas y en la inducción floral (véase el capítulo 24).

TABLA 17.1
Respuestas fotorreversibles típicas inducidas por el fitocromo en una gran variedad de plantas superiores e inferiores

Grupo	Género	Estado de desarrollo	Efectos de la luz del rojo
Angiospermas	*Lactuca* (lechuga)	Semilla	Promueve la germinación
	Avena (avena)	Plántula (etiolada)	Promueve la desetiolación (p.e. despliegue de hojas)
	Sinapis (mostaza)	Plántula	Promueve la formación de primordios foliares, desarrollo de hojas principales y síntesis de antocianinas
	Pisum (guisante)	Adulto	Inhibe la elongación de entrenudos
	Xanthium (bardana menor)	Adulto	Inhibe la floración (respuesta fotoperiódica)
Gimnospermas	*Pinus* (pino)	Plántula	Aumenta la tasa de acumulación de clorofila
Pteridofita	*Onoclea* (helecho)	Gametofito joven	Promueve el crecimiento
Briofita	*Polytrichum* (musgo)	Germinante	Promueve la replicación de plastos
Clorofita	*Mougeotia* (alga)	Gametofito maduro	Promueve la orientación de los cloroplastos hacia la luz débil dirigida

Las primeras observaciones mostraron que la germinación de las semillas de lechuga era estimulada por la luz del rojo e inhibida por la luz del rojo lejano. Pero el descubrimiento crucial se realizó muchos años después cuando las semillas de lechuga se expusieron alternativamente a tratamientos con luz del rojo y del rojo lejano. Cerca del 100% de las semillas que recibían luz del rojo como tratamiento final germinaban; sin embargo, en las semillas que recibían la luz del rojo lejano como tratamiento final, la germinación quedaba fuertemente inhibida (Figura 17.2) (Flint 1939).

Estos resultados permitían dos interpretaciones posibles. Una es que hubiera dos pigmentos, un pigmento que absorbiera la luz del rojo y otro pigmento que absorbiera la luz del rojo lejano, y que los dos actuaran antagónicamente en la regulación de la germinación de las semillas. Alternativamente, podría existir un único pigmento en dos formas interconvertibles: una forma que absorbiera luz del rojo y otra forma que absorbiera luz del rojo lejano (Borthwick y col. 1952).

El modelo elegido (el del pigmento único) era el más radical de los dos porque no se había descrito antes ningún pigmento fotorreversible. Varios años después se demostró por primera vez la existencia del fitocromo utilizando extractos de plantas y esta propiedad única de fotorreversibilidad fue mostrada *in vitro*, confirmando la predicción inicial (Butler y col. 1995).

En esta sección desarrollaremos tres cuestiones principales:

1. La fotorreversibilidad y su relación con las respuestas del fitocromo.

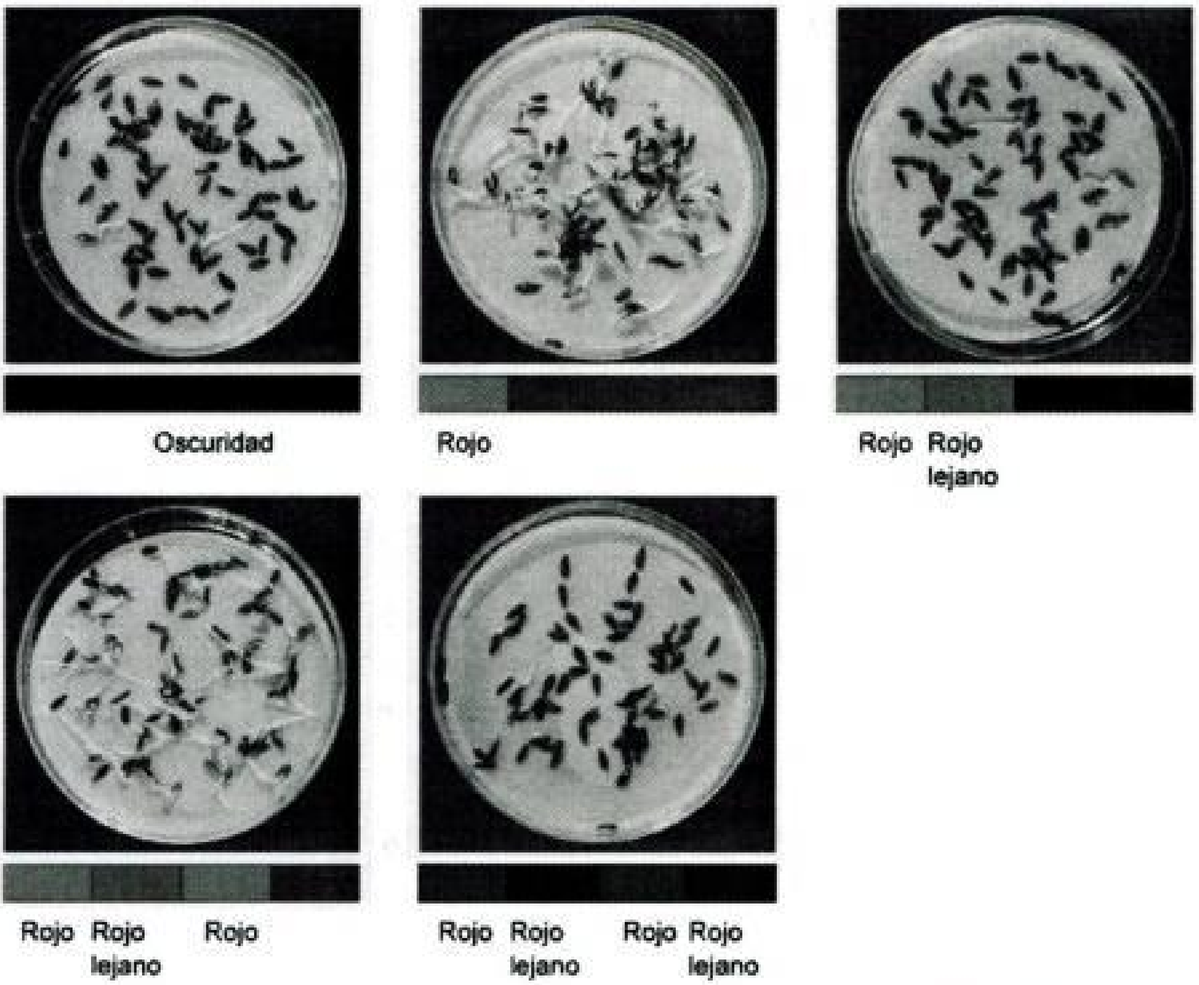


Figura 17.2 La germinación de semillas de lechuga es una respuesta fotorreversible típica controlada por el fitocromo. La luz del rojo promueve la germinación de las semillas, pero este efecto es revertido por la luz del rojo lejano. Las semillas embebidas (empapadas en agua) fueron sometidas a tratamientos alternativos de luz del rojo y luz del rojo lejano. El efecto del tratamiento luminoso depende de la duración del tratamiento dado. (Fotos © M. B. Wilkins).

2. La estructura del fitocromo, su síntesis y ensamblaje, y los cambios conformacionales asociados a las interconversiones entre las dos formas principales del fitocromo: Pr y Pfr.
3. La familia génica del fitocromo, cuyos miembros tienen diferentes funciones en la fotomorfogénesis.

El fitocromo puede interconvertirse entre las formas Pr y Pfr

En plantas etioladas o que han crecido en oscuridad, el fitocromo está presente en la forma de absorción de luz del rojo a la que nos referiremos como **Pr**, porque se sintetiza en esta forma. Pr, que es de color azul para el ojo humano, se transforma por la luz del rojo en la forma que absorbe en el rojo lejano, **Pfr**, que es de color azul verdoso. La forma Pfr, a su vez, puede ser de nuevo convertida a la forma Pr por la luz del rojo lejano.

Esta propiedad de interconversión, la más característica del fitocromo, se conoce como **fotorreversibilidad**, y puede expresarse de forma abreviada como:

$$\mathrm{Pr} \underset{\substack{\text{Luz del} \\ \text{rojo lejano}}}{\overset{\text{Luz del rojo}}{\rightleftharpoons}} \mathrm{Pfr}$$

La interconversión de las formas Pr y Pfr se puede medir *in vivo* e *in vitro*. De hecho, la mayoría de las propiedades espectrales del fitocromo purificado son las mismas que las que se observan *in vivo*.

Cuando las moléculas Pr se exponen a la luz del rojo, la mayoría de ellas la absorbe y se convierte en Pfr. Sin embargo, algunas de las moléculas de la forma Pfr también absorben la luz del rojo y se convierten en la forma Pr ya que la luz del rojo es absorbida por las dos formas (Figura 17.3). En consecuencia, la proporción de fitocromo como Pfr tras una irradiación saturante con luz del rojo es sólo del 85%. Del mismo modo, la pequeña cantidad de luz del rojo lejano absorbida por Pr hace imposible convertir todo el Pfr a Pr mediante luz del rojo lejano. Este hecho provoca que se alcance un equilibrio, denominado **estado fotoestacionario**, con un 97% de la forma Pr y un 3% en forma Pfr.

Además de absorber luz del rojo, ambas formas del fitocromo también absorben luz en la región del azul del espectro (véase la figura 17.3). Por tanto, los efectos del fitocromo pueden elicitarse también por la luz del azul, que puede convertir la forma Pr en Pfr y viceversa. Las respuestas a la luz del azul también pueden resultar de la acción de uno o más fotorreceptores de luz del azul (véase el capítulo 18). Que el fitocromo esté implicado en una respuesta a la luz del azul se puede determinar mediante un análisis de la capacidad de la luz del rojo lejano de revertir la respuesta, dado que sólo las respuestas inducidas por el fitocromo son reversibles por la luz del rojo lejano. Otra forma de discriminar entre fotorreceptores es el estudio de mutantes que son deficientes en uno de los fotorreceptores.

Las formas intermediarias de vida corta del fitocromo. Las fotoconversiones de Pr a Pfr y de Pfr a Pr no son procesos que se producen en una única etapa. Al irradiar el fitocromo con destellos de luz muy cortos, se pueden observar cambios de absorción que se producen en menos de un milisegundo.

Por supuesto, la luz del sol incluye una mezcla de todas las longitudes de onda del espectro visible. En estas condiciones de luz blanca, tanto Pr como Pfr se excitan por

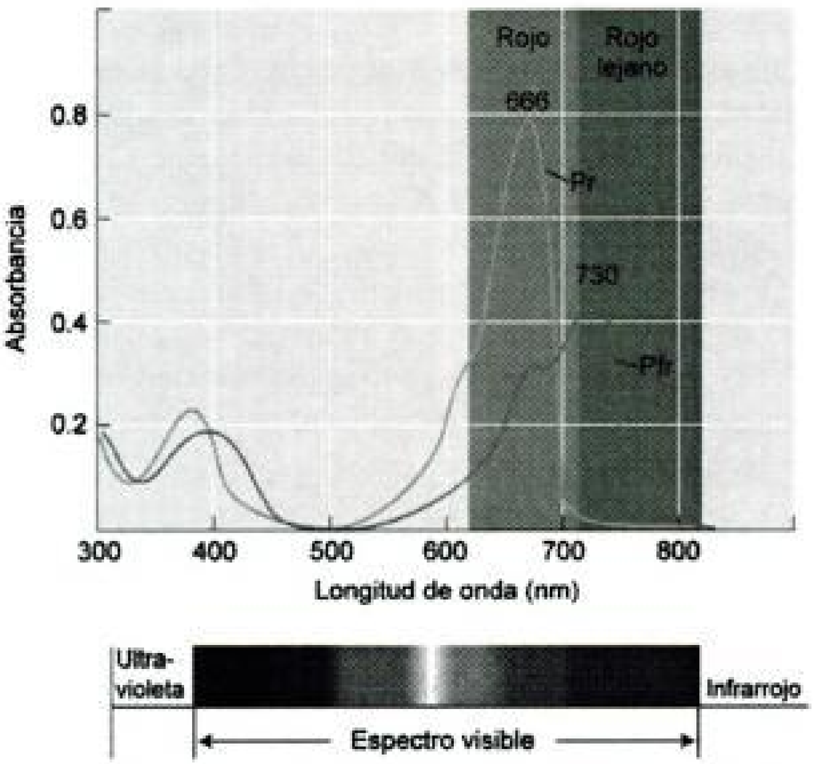


Figura 17.3 Los espectros de absorción del fitocromo purificado de avena en las formas Pr (línea verde) y Pfr (línea azul) se solapan. (Según Viestra y Quail 1983). (Véase la imagen en color en el CD).

lo que el fitocromo realiza continuamente ciclos entre las dos formas. En esta situación, se acumulan las formas intermediarias del fitocromo y crece como fracción significativa del fitocromo total. Es posible que dichos intermediarios participen en el inicio o amplificación de las respuestas del fitocromo en condiciones naturales de luz solar, aunque esta cuestión aún no ha sido resuelta.

Pfr es la forma fisiológicamente activa del fitocromo

Dado que las respuestas del fitocromo son inducidas por la luz del rojo, en teoría, podrían resultar bien por la aparición de Pfr o por la desaparición de Pr. En la mayoría de los casos estudiados, se mantiene una relación cuantitativa entre la magnitud de la respuesta y la cantidad de Pfr generada por la luz, y, sin emabargo, no existe una relación entre la respuesta fisiológica y la pérdida de Pr.

A partir de estas y otras evidencias se ha llegado a la conclusión de que Pfr es la forma fisiológicamente activa del fitocromo. En los casos en los que se ha demostrado que la respuesta del fitocromo no está cuantitativamente relacionada con la cantidad absoluta de Pfr, se ha propuesto que la relación entre Pfr y Pr, o entre Pfr y la cantidad total del fitocromo, determina la magnitud de la respuesta.

La conclusión de que Pfr es la forma fisiológicamente activa del fitocromo viene apoyada por estudios con mutantes de *Arabidopsis* que son incapaces de sintetizar el fitocromo. En plántulas silvestres, la elongación del hipocotilo está fuertemente inhibida por la luz blanca, y el fitocromo es uno de los receptores implicado en esta respuesta. Los mutantes *hy* se detectaron en plántulas de hipocotilo largo en condiciones de luz blanca continua. Los diferentes mutantes *hy* se designaron con números: *hy1*, *hy2*, etc. Como la luz blanca es una mezcla de longitudes de onda (que incluye la luz del rojo, del rojo lejano y del azul), se ha observado que algunos mutantes *hy*, pero no todos, son deficientes en uno o más fitocromos funcionales.

Los fenotipos de los mutantes deficientes en el fitocromo han sido útiles para la identificación de la forma fisiológicamente activa del fitocromo. Si la respuesta inducida por el fitocromo a la luz blanca (inhibición del crecimiento del hipocotilo) fuera producida por la ausencia de Pr, aquellos mutantes deficientes en fitocromo (que no tienen ni Pr ni Pfr) deberían tener hipocotilos cortos tanto en oscuridad como con luz blanca. Sin embargo, ocurre todo lo contrario; es decir, tienen hipocotilos largos tanto en oscuridad como con luz blanca. Es la ausencia de Pfr la que evita que las plántulas respondan a la luz blanca. En otras palabras, Pfr lleva a cabo la respuesta fisiológica.

El fitocromo es un dímero formado por dos polipéptidos

El fitocromo nativo es una proteína soluble con una masa molecular de unos 250 kDa que aparece como un dímero formado por dos subunidades equivalentes. Cada una de las subunidades está formada por dos componentes: una molécula de pigmento que absorbe la luz llamada **cromóforo,** y una cadena polipeptídica llamada **apoproteína**. El monómero de apoproteína tiene una masa molecular de unos 125 kDa. Juntas, la apoproteína y su cromóforo forman una **holoproteína**. En plantas superiores el cromóforo de la holoproteína es una cadena tetrapirrólica lineal llamada **fitocromobilina**. Hay sólo un cromóforo por molécula de apoproteína y está unido a la porción proteica a través de un enlace tioéter a un residuo de cisteína (Figura 17.4).

Los investigadores han determinado la forma Pr del fitocromo por microscopía electrónica y de barrido de rayos X, y el modelo propuesto se muestra en la figura 17.5 (Nasako y col. 1990). El polipéptido se pliega en dos dominios principales separados por una región «bisagra». El dominio N-terminal de mayor tamaño tiene aproximadamente 70 kDa y contiene el cromóforo; el dominio C-terminal más pequeño es aproximadamente de 55 kDa y contiene el sitio por el que se asocian los dos monómeros para formar el dímero (véase el **tema web 17.1**).

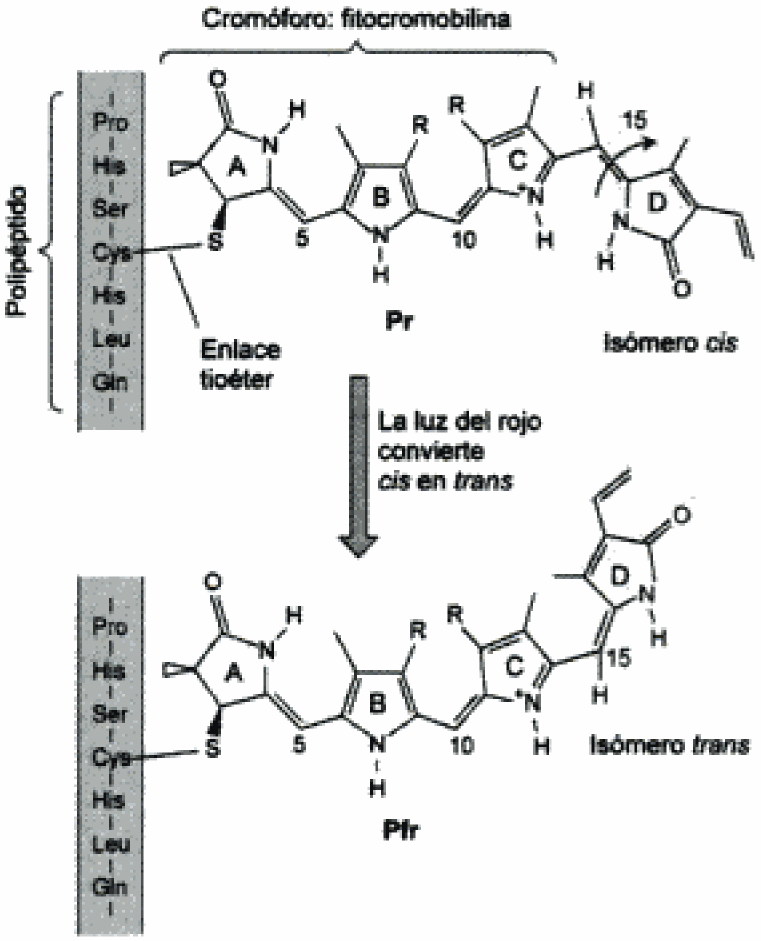

Cromóforo: fitocromobilina
Polipéptido
Pro
His
Ser
Cys
His
Leu
Gln
A
B
C
D
O
H
N
R
S
5
10
15
Enlace tioéter
Pr
Isómero *cis*
La luz del rojo convierte *cis* en *trans*
Pfr
Isómero *trans*

Figura 17.4 Estructura del cromóforo (fitocromobilina) y de la región del péptido unida al cromóforo a través de un enlace tioéter en las formas Pr y Pfr. El cromóforo sufre una isomerización *cis-trans* en el carbono-15 en respuesta a la luz del rojo y del rojo lejano. (Según Andel y col. 1997).

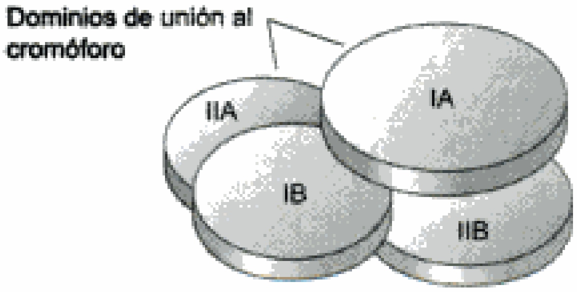

Dominios de unión al cromóforo
IA
IIA
IB
IIB

Figura 17.5 Estructura dimérica del fitocromo. Los monómeros están señalados como I y II. Cada monómero consta de un dominio de unión al cromóforo (A) y un dominio sin cromóforo más pequeño (B). La molécula completa tiene una forma elipsoidal y no globular. (Según Tokutomi y col. 1989).

La fitocromobilina es sintetizada en los plastos

La apoproteína del fitocromo sola no puede absorber la luz del rojo o del rojo lejano. La luz sólo puede absorberse cuando el polipéptido está covalentemente unido a la fitocromobilina para formar la holoproteína. La fitocromobilina se sintetiza en los plastos y deriva del ácido 5-aminolevulínico a través de una ramificación de la ruta de biosíntesis de las clorofilas (véase el **tema web 7.11**). Se cree que sale de los plastos al citosol por un proceso pasivo.

El ensamblaje de la apoproteína del fitocromo con su cromóforo es un proceso **autocatalítico**; es decir, se produce espontáneamente cuando se mezcla el polipéptido del fitocromo purificado con el cromóforo purificado en un tubo de ensayo, sin proteínas o cofactores adicionales (Li y Lagarias 1992). La holoproteína resultante tiene propiedades espectrales similares a las observadas en la holoproteína purificada de plantas y muestra la reversibilidad del rojo/rojo lejano (Li y Lagarias 1992).

Las plantas mutantes que carecen de la capacidad de sintetizar el cromóforo muestran defectos en los procesos que requieren la acción del fitocromo, incluso cuando los polipéptidos de la apoproteína están presentes. Por ejemplo, varios de los mutantes *hy* comentados antes, en los que la luz blanca no es capaz de inhibir la elongación del hipocotilo, tienen defectos en la biosíntesis del cromóforo. En las plantas mutantes *hy1* y *hy2*, los niveles de apoproteína del fitocromo son normales, aunque no hay, o muy poca, holoproteína espectralmente activa. Cuando se aporta un precursor del cromóforo a estas plántulas, se reestablece el crecimiento normal.

El mismo tipo de mutación se observa en otras especies. Por ejemplo, el mutante *amarillo-verde* de tomate tiene propiedades similares a las de los mutantes *hy*, sugiriendo que también es un mutante del fitocromo.

Tanto el cromóforo como la proteína sufren cambios conformacionales

A medida que el cromóforo absorbe la luz, los cambios conformacionales en la proteína se inician por cambios en el cromóforo. Tras la absorción de luz, el cromóforo Pr sufre una isomerización *cis-trans* del doble enlace entre los carbonos 15 y 16, y la rotación del enlace simple C14-C15 (Andel y col. 1997). Durante la conversión de Pr a Pfr, la proteína del fitocromo también sufre un ligero cambio conformacional.

Existen varias evidencias que sugieren que el cambio en la conformación del polipéptido inducido por la luz se produce tanto en el dominio de unión del cromóforo N-terminal, como en la región C-terminal.

Se han identificado dos tipos de fitocromos

El fitocromo es más abundante en las plántulas etioladas; así, la mayoría de los estudios bioquímicos se han realizado en fitocromos purificados de tejidos no verdes. Se extrae muy poco fitocromo de los tejidos verdes y, además, una parte del fitocromo extraído difiere en la masa molecular del fitocromo más abundante que se encuentra en las plantas etioladas.

Diferentes investigaciones han demostrado la existencia de dos clases diferentes de fitocromos con propiedades diferentes. Éstos se han designado como fitocromos tipo I y tipo II (Furuya 1993). El tipo I es unas nueve veces más abundante que el tipo II en plántulas de guisante que han crecido en oscuridad; en plántulas de guisantes que han crecido en presencia de luz los dos tipos están en cantidades similares. Más recientemente se ha demostrado que los dos tipos son proteínas diferentes.

La clonación de los genes que codifican los polipéptidos de los diferentes fitocromos ha clarificado la diferente naturaleza de los fitocromos presentes en las plántulas etioladas y en las verdes. Incluso en plántulas etioladas, el fitocromo es una mezcla de proteínas relacionadas codificadas por diferentes genes.

El fitocromo está codificado por una familia multigénica

La clonación de los genes del fitocromo hizo posible llevar a cabo una comparación más detallada de las secuencias de aminoácidos de las proteínas relacionadas. También permitió el estudio de sus patrones de expresión, a nivel del mRNA y a nivel proteico.

Las primeras secuencias clonadas del fitocromo fueron las de monocotiledóneas. Estos estudios y las investigaciones posteriores indicaron que los fitocromos son proteínas solubles (un hallazgo que está de acuerdo con los estudios de purificación previos). Se utilizó un clon de DNA complementario (cDNA) que codifica un fitocromo del calabacín (*Cucurbita pepo*), una dicotiledónea, para identificar cinco genes de fitocromo estructuralmente relacionados en *Arabidopsis* (Sharrock y Quail 1989). Esta familia génica de fitocromos relacionados se denominó PHY, y los cinco miembros de la familia se denominan *PHYA*, *PHYB*, *PHYC*, *PHYD* y *PHYE*.

La apoproteína sin el cromóforo se designa PHY; la holoproteína (es decir, con el cromóforo) se designa phy. Por convenio, las secuencias del fitocromo de otras plantas superiores se nombran de acuerdo con su homología con los genes *PHY* de *Arabidopsis*. Las monocotiledóneas parecen tener representantes únicamente de las familias *PHYA*, *PHYB* y *PHYC*, mientras que las dicotiledóneas tienen otros derivados por duplicación génica (Mathews y Sharrock 1997).

Algunos de los mutantes *hy* han demostrado ser selectivamente deficientes en fitocromos específicos. Por ejemplo, los mutantes *hy3* son deficientes en phyB, y *hy1* y *hy2* son deficientes en el cromóforo. Estos y otros mutantes *phy* han sido útiles para determinar las funciones fisiológicas de los diferentes fitocromos (como analizaremos más adelante en este capítulo).

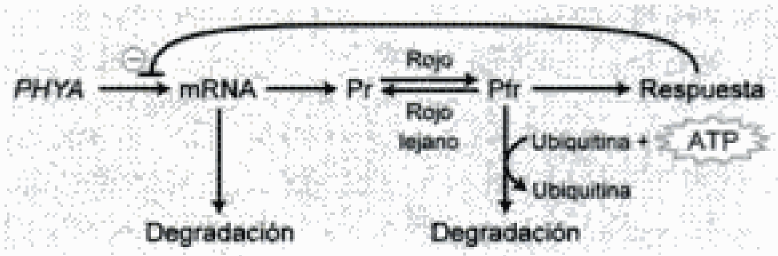
Los genes *PHY* codifican dos tipos de fitocromos

En base a sus patrones de expresión, los productos de los miembros de la familia *PHY* se pueden clasificar bien como fitocromos de tipo I o como de tipo II. El gen *PHYA* es el único que codifica un fitocromo de tipo I. Esta conclusión se basa en el patrón de expresión del promotor *PHYA*, así como de la acumulación de su mRNA y el polipéptido de respuesta a la luz. Estudios adicionales en plantas que contienen formas mutadas del gen *PHYA* (llamados alelos *phyA*) han confirmado esta conclusión y han aportado algunas pistas sobre la función del fitocromo en la planta entera.

El gen *PHYA* es transcripcionalmente activo en plántulas que han crecido en oscuridad, pero su expresión está fuertemente inhibida por la luz en monocotiledóneas. En avena que ha crecido en oscuridad, los tratamientos con luz del rojo reducen la síntesis del fitocromo, ya que la forma Pfr del fitocromo inhibe la expresión de su propio gen. Además, el mRNA de *PHYA* es inestable. Cuando se transfieren plántulas etioladas de avena a la luz, el mRNA de *PHYA* desaparece rápidamente. El efecto inhibidor de la luz sobre la transcripción de *PHYA* es menos intenso en dicotiledóneas y en *Arabidopsis* la luz del rojo no tiene efectos cuantificables sobre *PHYA*.

La cantidad de phyA en la célula está también regulada por la degradación de proteínas. La forma Pfr de la proteína codificada por el gen *PHYA*, llamada también **PfrA**, es inestable. Hay evidencias de que PfrA puede ser marcado para su destrucción por el sistema ubiquitina (Vierstra 1994). Como se analizó en el capítulo 14 en la página web, la *ubiquitina* es un polipéptido pequeño que se une covalentemente a las proteínas y sirve de sitio de reconocimiento para un gran complejo proteolítico, el *proteasoma*.

Por tanto, en avena y otras monocotiledóneas la rápida pérdida de la mayor parte del fitocromo de tipo I es debida a una combinación de factores: inhibición de la transcripción, degradación del mRNA y proteolisis:



En dicotiledóneas, los niveles de phyA también se reducen por la luz como consecuencia de la proteolisis, aunque no tan drásticamente.

Los restantes genes *PHY* (de *PHYB* a *PHYE*) codifican fitocromos de tipo II. Aunque detectados en plantas verdes, estos fitocromos también están presentes en plantas etioladas. La razón es que la expresión de su mRNA no cambia significativamente en respuesta a la luz y las proteínas codificadas por estos genes (*phyB* a *phy E*) son más estables en la forma Pfr de lo que lo es PfrA.

$$PHYB\text{-}E \longrightarrow \text{mRNA} \longrightarrow \text{Pr} \underset{\text{Rojo lejano}}{\overset{\text{Rojo}}{\rightleftharpoons}} \text{Pfr} \longrightarrow \text{Respuesta}$$

LOCALIZACIÓN DEL FITOCROMO EN TEJIDOS Y CÉLULAS

Se puede obtener una valiosa información sobre la función de una proteína determinando su localización en el organismo. Por ello se ha realizado un gran esfuerzo para determinar la localización del fitocromo en órganos y tejidos, así como en el interior de las células.

El fitocromo puede detectarse en tejidos por espectrofotometría

Las propiedades fotorreversibles únicas del fitocromo pueden ser utilizadas para cuantificar la cantidad de proteína pigmento en plantas enteras utilizando un espectrofotómetro. Como su color es enmascarado por la clorofila, es difícil detectar el

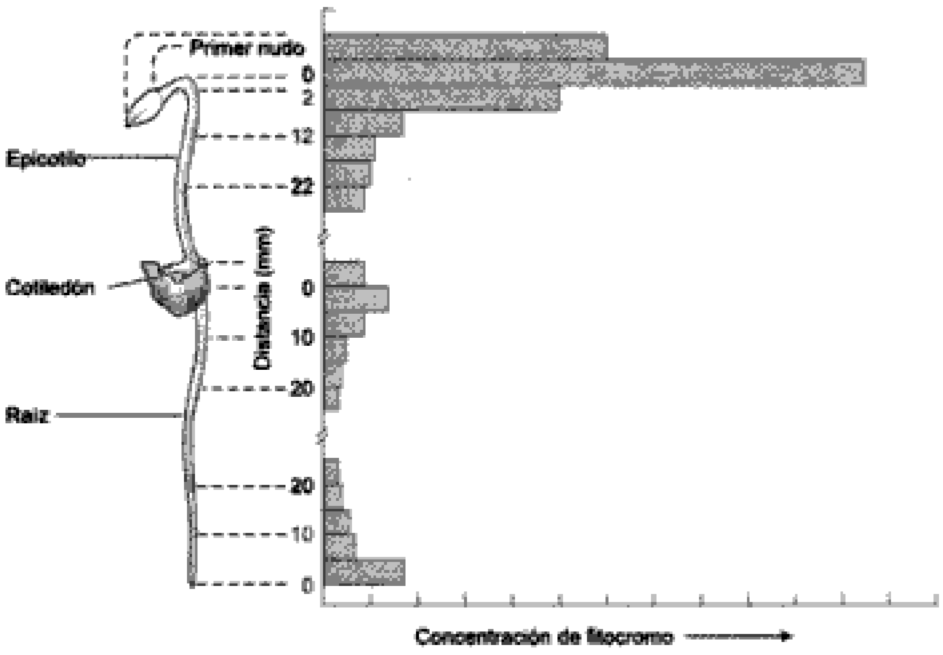


Figura 17.6 El fitocromo se concentra en las regiones donde se producen cambios drásticos en el desarrollo: los meristemos apicales del epicotilo y la raíz. Se muestra aquí la distribución del fitocromo en una plántula etiolada de guisante, medida por espectrofotometría. (Según Kendrick y Frankland 1983).

fitocromo en tejidos verdes. En plantas que han crecido en oscuridad, donde no hay clorofilas, el fitocromo se ha detectado en la mayoría de tejidos de angiospermas, tanto en monocotiledóneas como en dicotiledóneas, así como en gimnospermas, helechos, musgos y algas.

En plántulas etioladas los niveles más altos de fitocromo se encuentran normalmente en las regiones meristemáticas o en las regiones que han sido recientemente meristemáticas, tales como las yemas y el primer nudo en guisantes (Figura 17.6), o en el ápice y en las regiones nodales del coleóptilo de avena. Sin embargo, las diferencias en los patrones de expresión entre las monocotiledóneas y las dicotiledóneas y entre los fitocromos tipo I y tipo II son evidentes cuando se utilizan otros métodos más sensibles.

El fitocromo se expresa de forma diferencial en los tejidos

La clonación de los diferentes genes *PHY* ha permitido a los investigadores determinar por varios métodos los patrones de expresión de fitocromos individuales en tejidos específicos. Las secuencias se pueden utilizar directamente para detectar mRNA aislados de diferentes tejidos o para analizar la actividad transcripcional de un gen marcador, que revela el sitio de la expresión génica. En la última aproximación, el promotor del gen *PHYA* o *PHYB* se une a la secuencia codificante de un gen marcador, como el gen que codifica el enzima β-glucuronidasa, denominada también GUS (recuerde que el promotor es la secuencia necesaria para la transcripción del gen en dirección 5').

La ventaja de la utilización de la secuencia GUS es que codifica un enzima que, incluso en cantidades pequeñas, convierte un sustrato incoloro en un precipitado azul, cuando se le aporta a la planta dicho sustrato. Así, las células en las que el promotor *PHYA* es activo se colorearán de color azul y las otras células se mantendrán sin color. El gen híbrido o fusionado se coloca de nuevo en la planta utilizando como vector el plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* (véase el **tema web 21.5**).

Cuando se utilizó este método para examinar la transcripción de dos genes *PHYA* diferentes en tabaco, se encontró que las plántulas que han crecido en oscuridad acumulaban las cantidades más elevadas del precipitado en el gancho plumular y en los ápices radicales, de acuerdo con otros estudios inmunológicos previos (Adam y col. 1994). El patrón de tinción en las plántulas que han crecido con luz era muy similar pero, como cabía esperar, con mucha menor intensidad. Estudios similares en *Arabidopsis* con fusiones *PHY*A-GUS y *PHY*B-GUS, confirmaron los resultados de *PHYA* para tabaco e indicaron que *PHY*B-GUS se expresa en niveles mucho más bajos que *PHY*A-GUS en todos los tejidos (Somers y Quail 1995).

Un estudio comparativo reciente de los patrones de expresión de las fusiones *PHYB*-GUS, *PHYD*-GUS y *PHYE*-GUS en *Arabidopsis* ha revelado que, aunque los promotores de tipo II son menos activos que los promotores de tipo I, muestran distintos patrones de expresión (Goosey y col. 1997). Así, la conclusión general de estos primeros estudios es que los fitocromos se expresan con patrones diferentes, aunque solapantes.

En resumen, los fitocromos son más abundantes en tejidos jóvenes, no diferenciados, en las células donde los mRNA son más abundantes y los promotores son más activos. La fuerte correlación entre la abundancia del fitocromo y las células que tienen un gran potencial de cambios en el desarrollo es consistente con la función principal de los fitocromos en el control de tales cambios del desarrollo. Sin embargo, hay que destacar que los estudios aquí analizados no están dirigidos a descubrir si los fitocromos son fotoactivos como apoproteínas o como holoproteínas.

Como los patrones de expresión de los fitocromos individuales se solapan, no sorprendería que actuaran cooperativamente, aunque probablemente usen también diferentes rutas de transducción de señal. Los estudios de mutantes de fitocromo apoyan esta idea, analizada más adelante en este capítulo.

CARACTERÍSTICAS DE LAS RESPUESTAS INDUCIDAS POR FITOCROMO EN PLANTAS COMPLETAS

Existe una gran variedad de respuestas diferentes del fitocromo en plantas intactas, tanto en términos del tipo de respuestas (véase la tabla 17.1) como en la cantidad de luz necesaria para inducir las respuestas. Una revisión de esta variedad de respuestas demostrará cómo los diferentes efectos de un fotofenómeno (la absorción de luz por Pr) se manifiestan en toda la planta. Para facilitar el análisis, las respuestas inducidas por el fitocromo pueden agruparse en dos tipos:

1. Cambios bioquímicos rápidos
2. Cambios morfológicos lentos, incluidos el movimiento y el crecimiento.

Algunas de las reacciones bioquímicas iniciales afectan a respuestas posteriores del desarrollo. La naturaleza de estos primeros cambios bioquímicos, que comprenden las rutas de transducción de señal, se tratará con detalle más adelante en este capítulo. Aquí nos centraremos en los efectos del fitocromo en la respuesta de toda la planta. Como veremos, estas respuestas pueden ser clasificadas en varios tipos, dependiendo de la cantidad y duración de la luz necesaria, y de su espectro de acción.

Las respuestas del fitocromo varían en período de latencia y en tiempo de escape

Las respuestas morfológicas a la fotoactivación del fitocromo se pueden observar después del *período de latencia* (el tiempo entre la estimulación y la respuesta observada). Este período de latencia puede ser breve, de unos pocos minutos, o largo, de varias semanas. Las respuestas más rápidas son normalmente movimientos reversibles de los orgánulos (véase el **tema web 17.2**) o cambios reversibles de volumen en las células (encogimiento, hinchamiento), aunque incluso algunas respuestas de crecimiento se producen rápidamente.

La inhibición de la elongación del tallo de quinoa blanca (*Chenopodium album*) por la luz del rojo se observa 8 minutos después de haber aumentado el nivel relativo de Pfr. Los estudios cinéticos en *Arabidopsis* han confirmado esta observación y muestran que phyA actúa tras una exposición de varios minutos a la luz del rojo (Parks y Spalding 1995). En estos estudios, la principal contribución de phyA se detectó al cabo de unas 3 horas, cuando la proteína phyA ya no era detectable utilizando anticuerpos, y aumentaba la contribución de phyB (Morgan y Smith 1978). Se han observado tiempos de respuesta más largos, de varias semanas, en la inducción de la floración (véase el capítulo 24).

La información sobre el período de latencia para una respuesta del fitocromo ayuda a los científicos a evaluar la clase de acontecimientos bioquímicos que podrían preceder y provocar la inducción de la respuesta. Cuanto más corto es el período de latencia más limitado es el número de procesos bioquímicos que pueden estar implicados.

La variedad de las respuestas del fitocromo puede observarse en un fenómeno llamado **escape de la fotorreversibilidad**. Los fenómenos inducidos por la luz del rojo son reversibles por el rojo lejano durante un período limitado de tiempo, después del cual se dice que la respuesta «ha escapado» al control reversible de la luz.

Un modelo para explicar este fenómeno considera que las respuestas morfológicas controladas por el fitocromo son el resultado de una secuencia de reacciones bioquímicas ligadas en las células que responden. Cada una de estas secuencias tiene un punto de no retorno que precede a la respuesta. El tiempo de escape para diferentes respuestas varía desde menos de un minuto a horas.

Las respuestas del fitocromo se pueden clasificar de acuerdo con la cantidad de luz necesaria

Además de distinguirse por los tiempos de respuesta y los tiempos de escape, las respuestas del fitocromo se pueden clasificar por la cantidad de luz necesaria para in-

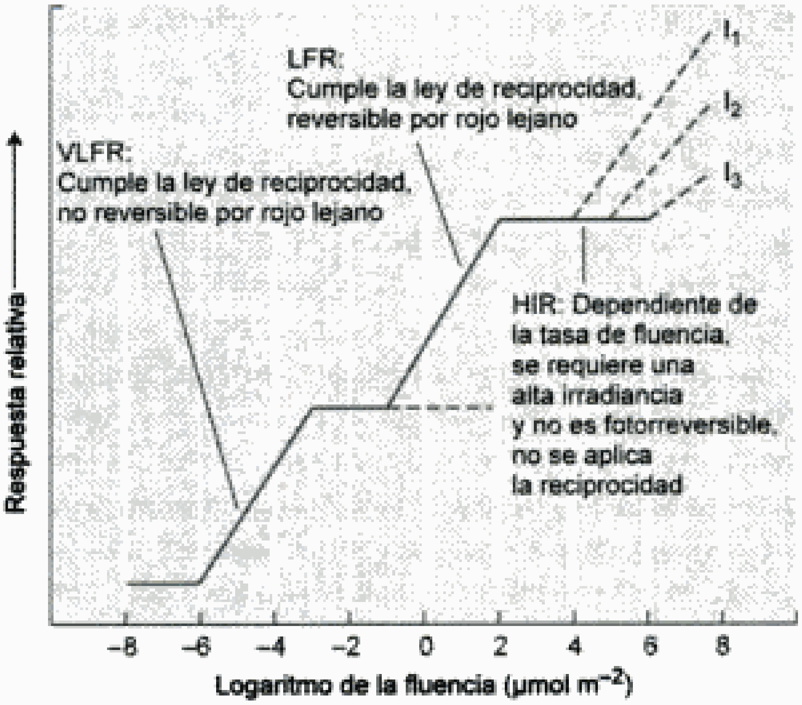


Figura 17.7 Tres tipos de respuestas del fitocromo en función de su sensibilidad a la fluencia. Las magnitudes relativas de las respuestas se han representado frente a las fluencias crecientes de luz del rojo. Pulsos de luz cortos activan las VLFRs y LFRs. Como las HIRs son también proporcionales a la irradiancia, se ilustran los efectos de tres irradiancias diferentes ($I_1 > I_2 > I_3$). (Según Briggs y col. 1984).

ducirlas. A esta cantidad se la conoce como **fluencia,**[1] que se define como el número de fotones que inciden sobre una unidad de superficie (véase el capítulo 9 y el **tema web 9.1**). Las unidades que se utilizan más frecuentemente son moles de cuantos por metro cuadrado (mol m^{-2}). Además de la fluencia, algunas respuestas de fitocromos son sensibles a la **irradiancia,**[2] o *tasa de fluencia*, de la luz. Las unidades de irradiancia en términos de fotones son moles de cuantos por metro cuadrado por segundo (mol m^{-2} s^{-1}).

Cada respuesta del fitocromo tiene un rango característico de fluencias de la luz en el que la magnitud de la respuesta es proporcional a la fluencia. Como se muestra en la figura 17.7, estas respuestas se clasifican en tres categorías basadas en la cantidad de luz necesaria: respuestas de muy baja fluencia (VLFRs), respuestas de baja fluencia (LFRs) y respuestas de alta irradiancia (HIRs).

---

[1] Para las definiciones de *fluencia*, *irradiancia* y otros términos implicados en la cuantificación de la luz, véase el **tema web 9.1**.

[2] A veces la irradiancia se compara equivocadamente con la intensidad luminosa. El término *intensidad*, no obstante, se refiere a la luz emitida por la fuente, mientras que la *irradiancia* se refiere a la luz que incide sobre un objeto.

Las respuestas de muy baja fluencia no son fotorreversibles

Algunas respuestas del fitocromo se pueden iniciar a fluencias muy bajas, del orden de 0,0001 μmol m^{-2} (una décima parte de la cantidad de luz emitida por una luciérnaga en un único destello) y se saturan (es decir, alcanzan su máximo) a unos 0,05 μmol m^{-2}. Por ejemplo, en plántulas de avena que han crecido en oscuridad, la luz del rojo puede estimular el crecimiento del coleóptilo e inhibir el crecimiento del mesocotilo (el eje elongado entre el coleóptilo y la raíz) a fluencias de este orden. Estos efectos tan destacables a niveles tan bajos de iluminación se denominan **respuestas de muy baja fluencia (VLFRs)**.

La cantidad de minutos de luz necesaria para inducir VLFRs convierte menos de un 0,02% del fitocromo total a Pfr. Dado que la luz del rojo lejano que normalmente revertería un efecto de la luz del rojo convierte un 97% de Pfr a Pr (como analizamos anteriormente), cerca de un 3% del fitocromo permanece como Pfr (significativamente más del necesario para inducir las VLFRs) (Mandoli y Briggs 1984). Así, la luz del rojo lejano no puede revertir las VLFRs. El espectro de acción de la VLFR coincide con el espectro de absorción de Pr, lo que sugiere que Pfr es la forma activa para todas estas respuestas (Shinomura y col. 1996).

Las implicaciones ecológicas de la VLFR en la germinación de semillas se analizan en el **ensayo web 17.1**.

Las respuestas de baja fluencia son fotorreversibles

Otro grupo de respuestas del fitocromo no puede iniciarse hasta que la fluencia alcanza 1,0 μmol m^{-2}, y se saturan a 1000 μmol m^{-2}. A estas respuestas se las conoce como **respuestas de baja fluencia (LFRs)** e incluyen la mayoría de las respuestas fotorreversibles del rojo/rojo lejano, como la promoción de la germinación de las semillas de lechuga y la regulación de los movimientos de las hojas, que se mencionaron en la tabla 17.1. El espectro de acción de la LFR para la germinación de semillas de *Arabidopsis* se muestra en la figura 17.8. El espectro de la LFR contiene un pico para la estimulación en la región del rojo (660 nm) y un pico principal para la inhibición en la región del rojo lejano (720 nm).

Tanto las VLFRs como las LFRs se pueden inducir con breves pulsos de luz, siempre que la cantidad total de energía luminosa se añada a la fluencia necesaria. La fluencia total es función de dos factores: la tasa de fluencia (mol m^{-2} s^{-1}) y el tiempo de irradiación. Así, un breve pulso de luz del rojo inducirá una respuesta, siempre que la luz sea suficientemente intensa y, por el contrario, la luz débil funcionará si el tiempo de irradiación es suficientemente largo. Esta relación recíproca entre la tasa de fluencia y el tiempo se conoce como **ley de reciprocidad**, que fue formulada por pri-

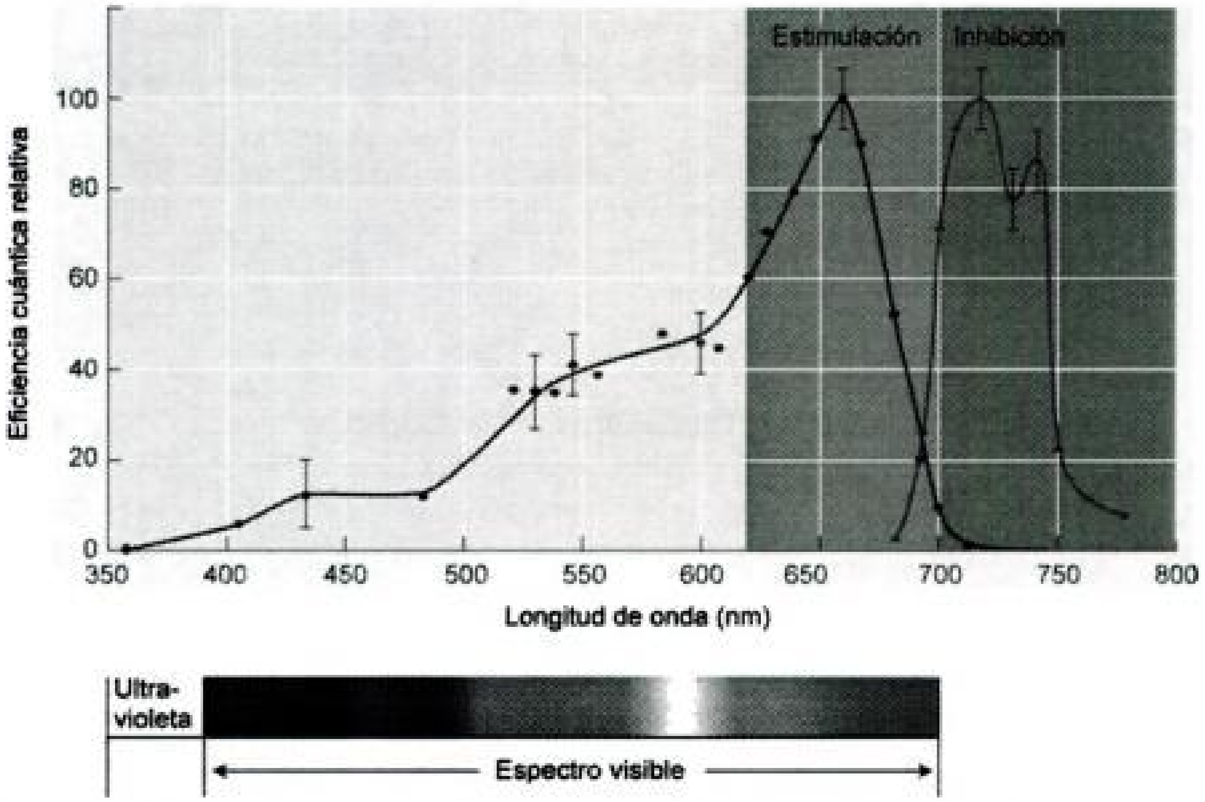


Figura 17.8 Espectro de acción de la LFR para la estimulación e inhibición fotorreversible de la germinación de semillas de *Arabidopsis*. (Según Shropshire y col. 1961).

mera vez por R. W. Bunsen y H. E. Roscoe en 1850. Tanto las VLFRs como las LFRs obedecen la ley de reciprocidad.

Las respuestas de alta irradiancia son proporcionales a la fluencia y a la duración

Las respuestas del fitocromo del tercer tipo se denominan **respuestas de alta irradiancia (HIRs)**, varias de las cuales se mencionan en la tabla 17.2. Las HIRs requieren una exposición prolongada o continua a la luz, y la respuesta es proporcional a la irradiancia en un cierto rango.

La razón de que a estas respuestas se las denomine de alta irradiancia más que respuestas de alta fluencia es que son proporcionales a la irradiancia (de forma coloquial, el brillo de la luz) más que a la fluencia. Las HIRs se saturan a fluencias mucho mayores que las LFRs (al menos 100 veces mayores) y no son fotorreversibles. Como ni la continua exposición a la luz débil ni la exposición a una luz brillante pueden inducir HIRs, las HIRs no obedecen la ley de la reciprocidad.

Muchas de las LFRs fotorreversibles enumeradas en la tabla 17.1, particularmente las implicadas en la desetiolación, también se clasifican como HIRs. Por ejem-

Tabla 17.2
Algunas respuestas morfogénicas vegetales inducidas por altas irradiancias

Síntesis de antocianinas en varias plántulas de dicotiledóneas y en segmentos de piel de manzana
Inhibición de la elongación del hipocotilo en plántulas de mostaza, lechuga y petunia
Inducción de la floración en *Hyoscyamus* (beleño)
Apertura del gancho plumular en lechuga
Alargamiento de los cotiledones en mostaza
Producción de etileno en sorgo

plo, a bajas fluencias el espectro de acción de la producción de antocianina en plántulas de mostaza blanca (*Sinapis alba*) muestra un único pico en la región del rojo del espectro, el efecto es revertido por el rojo lejano y la respuesta obedece a la ley de reciprocidad. Sin embargo, si las plántulas que han crecido en oscuridad, se exponen a luz de alta irradiancia durante varias horas, el espectro de acción incluye picos en la región del rojo lejano y del azul (véase la siguiente sección), el efecto no es fotorreversible y la respuesta se vuelve proporcional a la irradiancia. Así, el mismo efecto puede ser LFR o HIR, dependiendo de su historial de exposición a la luz.

El espectro de acción de HIR de plántulas etioladas tiene picos en las regiones del rojo lejano, del azul y del UV-A

Las HIRs, como la inhibición del crecimiento del tallo o hipocotilo, se han estudiado principalmente en plántulas etioladas que han crecido en oscuridad. El espectro de acción de la HIR para la inhibición de la elongación del hipocotilo en plántulas de lechuga que han crecido en oscuridad se muestra en la figura 17.9. Para las HIRs, el pico principal de actividad se localiza en la región del rojo lejano entre el máximo de absorción de Pr y Pfr, y también tiene picos en las regiones del azul y del UV-A. Como la ausencia de un pico en la región del rojo es inusual para una respuesta mediada por el fitocromo, inicialmente los investigadores creyeron que podría estar implicado otro pigmento.

Actualmente, existe una gran cantidad de evidencias que indican que el fitocromo es uno de los fotorreceptores implicados en las HIRs (véase el **tema web 17.3**). Sin embargo, se sospecha que los picos de las regiones del azul y UV-A puedan ser debidos a otro fotorreceptor diferente que absorba la luz de las regiones del azul y UV-A.

Como prueba de esta hipótesis, se determinó el espectro de acción de la HIR para la inhibición de la elongación del hipocotilo en mutantes *hy2* de *Arabidopsis* que han crecido en oscuridad, que contienen poco o nada de la holoproteína del fitocromo. Como se esperaba, las plántulas silvestres mostraron picos en las regiones UV-A, del azul y del rojo lejano del espectro. Por el contrario, los mutantes *hy2* no respondieron a la luz del rojo lejano o a la del rojo. Aunque el mutante *hy2* deficien-

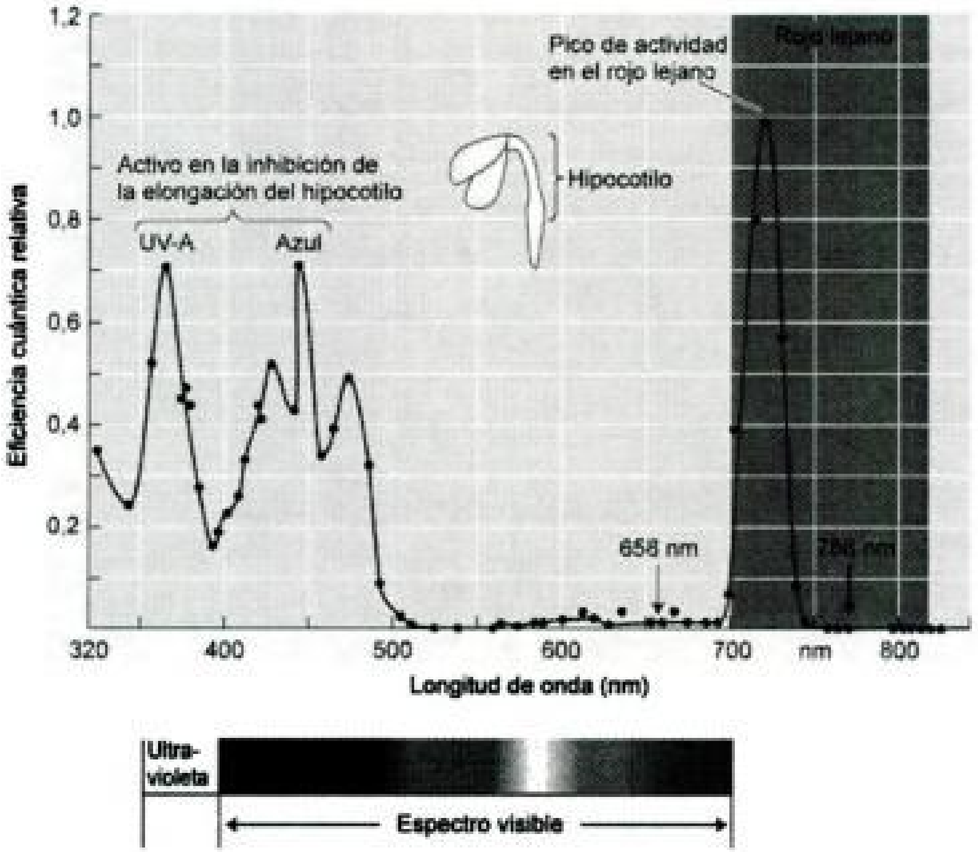


Figura 17.9 Espectro de acción de la HIR para la inhibición de la elongación del hipocotilo en plántulas de lechuga crecidas en oscuridad. Los picos de actividad para la inhibición de la elongación del hipocotilo aparecen en las regiones UV-A, azul y rojo lejano del espectro. (Según Hartmann 1967).

te en el fitocromo no muestra un pico en la región del rojo lejano, muestra una respuesta normal a la luz UV-A y del azul (Goto y col. 1993).

Estos resultados demuestran que el fitocromo no está implicado en la HIR de la luz UV-A o del azul, y que un fotorreceptor distinto azul/UV-A es el responsable de la respuesta a estas longitudes de onda. Estudios más recientes indican que los fotorreceptores CRY1 y CRY2 están implicados en la inhibición de la elongación del hipocotilo por la luz del azul.

El espectro de acción de la HIR de las plantas verdes tiene un pico principal en el rojo

En los estudios de la HIR con plántulas etioladas, se observó que la respuesta a luz continua del rojo lejano disminuía rápidamente a medida que las plántulas se iban reverdeciendo. El espectro de acción para la inhibición del crecimiento del hipocotilo de plántulas verdes de *Sinapis alba* (mostaza blanca) que han crecido con luz se

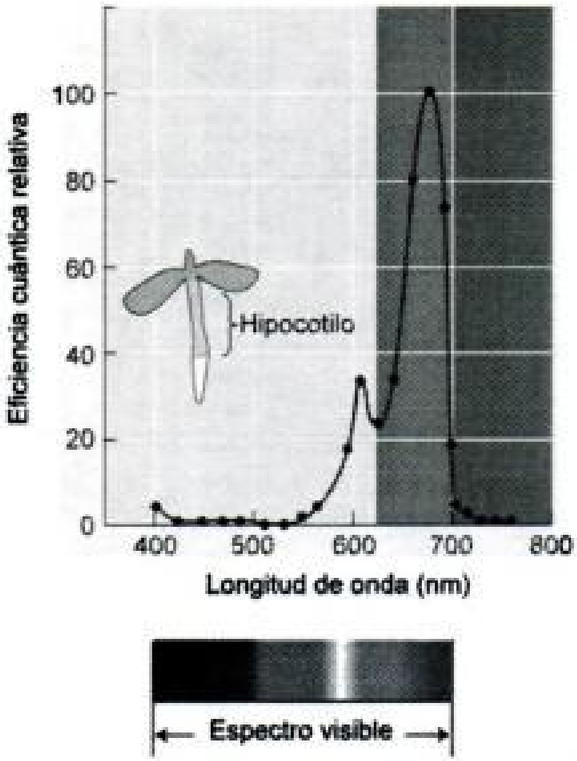


Figura 17.10 Espectro de acción de la HIR para la inhibición de la elongación del hipocotilo de plántulas de mostaza blanca (*Sinapis alba*) que han crecido en presencia de luz. (Según Beggs y col. 1980).

muestra en la figura 17.10. En general, los espectros de acción HIR de plantas que han crecido con luz muestran un pico principal en la región del rojo, similar a los espectros de acción de las LFRs (véase la figura 17.8), salvo que el efecto no es fotorreversible.

La pérdida de la capacidad de responder a la luz continua del rojo lejano se correlaciona fuertemente con la disminución de la cantidad del fitocromo tipo I, lábil a la luz, y cuyo componente mayoritario es phyA. Este descubrimiento sugiere que la HIR de plántulas etioladas a la luz del rojo lejano está mediada por phyA, mientras que la HIR de las plántulas verdes a la luz del rojo está mediada por el fitocromo phyB de tipo II y posiblemente por otros.

FUNCIONES ECOLÓGICAS: EVITAR LA SOMBRA

Hasta ahora hemos analizado las respuestas reguladas por el fitocromo en estudios de laboratorio. No obstante, el fitocromo tiene importantes funciones ecológicas en las plantas que crecen en la naturaleza. En la sección siguiente aprenderemos cómo sienten y responden las plantas a la sombra de otras plantas, y cómo el fitocromo está implicado en la regulación de varios ritmos diarios. También examinaremos las funciones especializadas de los diferentes miembros de la familia génica del fitocromo en estos procesos.

El fitocromo permite a las plantas adaptarse a los cambios en las condiciones luminosas

La presencia de un pigmento reversible para el rojo/rojo lejano en todas las plantas verdes, desde las algas a las dicotiledóneas, sugiere que estas longitudes de onda de la luz proporcionan información que ayuda a las plantas a adaptarse a su entorno. ¿Qué condiciones ambientales provocan cambios en los niveles relativos de estas dos longitudes de onda de la luz en la radiación natural?

La proporción de la luz del rojo (R) y del rojo lejano (FR) varía notablemente en diferentes entornos. Esta proporción se puede definir como:

$$\frac{R}{FR} = \frac{\begin{array}{c}\text{Tasa de fluencia fotónica}\\ \text{en una franja de 10 nm centrada a 660 nm}\end{array}}{\begin{array}{c}\text{Tasa de fluencia fotónica}\\ \text{en una banda de 10 nm centrada a 730 nm}\end{array}}$$

La tabla 17.3 compara la intensidad luminosa total en fotones (400-800 nm) y los valores R/FR en ocho entornos naturales. Ambos parámetros varían mucho en los diferentes entornos.

Comparada con la luz del sol directa durante el día, hay relativamente más luz del rojo lejano en la puesta de sol, bajo 5 mm de suelo o bajo la cubierta vegetal de otras plantas (como en el sotobosque). El fenómeno de la cubierta vegetal resulta del hecho de que las hojas verdes absorben luz del rojo debido al contenido de clorofila, pero son relativamente transparentes a la luz del rojo lejano.

La proporción R:FR y la sombra. Una función importante del fitocromo es que permite a las plantas detectar la sombra que les hacen otras plantas. Las plantas que aumentan la longitud del tallo en respuesta a la sombra se dice que muestran una **respuesta para evitar la sombra.** A medida que la sombra aumenta, la proporción R:FR disminuye. La mayor proporción de luz del rojo lejano convierte más Pfr a Pr, y la cantidad de Pfr respecto del fitocromo total disminuye (Pfr/P_{total}). Cuando se utilizó la simulación de la radiación natural para variar el contenido del rojo lejano, se encontró que las llamadas plantas de sol (plantas que normalmente crecen en campo abierto), cuanto más alto era su contenido de rojo lejano (es decir, una proporción Pfr/P_{total} más baja) más alta era la tasa de extensión del tallo (Figura 17.11).

TABLA 17.3
Parámetros de la luz con importancia ecológica

	Densidad de flujo fotónico (μmol m^{-2} s^{-1})	R/FR[a]
Luz del día	1900	1,19
Puesta del sol	26,5	0,96
Luz de luna	0,005	0,94
Bajo una cubierta de hiedra	17,7	0,13
Lagos, a 1 m de profundidad		
Lago Negro	680	17,2
Lago Leven	300	3,1
Lago Borralie	1200	1,2
Suelo, a una profundidad de 5 mm	8,6	0,88

Fuente: Smith 1982, p. 493.
Nota: El factor de intensidad luminosa (400-800 nm) se da como densidad del flujo fotónico y la luz activa para el fitocromo se da como relación R:FR.
[a] Los valores absolutos se han tomado de barridos con un espectroradiómetro; los valores deben considerarse para establecer las relaciones entre las diferentes condiciones naturales, y no como medias reales del entorno.

En otras palabras, la simulación de la sombra por la cubierta vegetal (altos niveles del rojo lejano) indujo a estas plantas a destinar una mayor parte de sus recursos a crecer en altura. Esta correlación no se mantuvo cuando se ensayaron plantas de sombra, que normalmente crecen en entornos sombríos. Las plantas de sombra mostraron poca o escasa alteración en la tasa de extensión del tallo cuando se expusieron a valores más altos de R/FR (véase la figura 17.11). Así, parece haber una relación entre el crecimiento controlado por el fitocromo y el hábitat de las especies. Estos resultados se consideran una indicación de la implicación del fitocromo en la percepción de la sombra.

Para una «planta de sol» o una «planta que evita la sombra» destinar sus recursos a un crecimiento más rápido cuando otra planta le hace sombra es una clara adaptación al entorno. De esta forma puede crecer por encima de la cubierta vegetal y absorber una mayor parte de luz fotosintéticamente activa no filtrada. El precio para favorecer la expansión de los entrenudos normalmente es reducir el área foliar y reducir la ramificación, pero, al menos a corto plazo, esta adaptación a la sombra de la cubierta vegetal parece funcionar.

***La proporción R:FR y la germinación de las semillas*.** La calidad de la luz también juega un papel en la regulación de la germinación de algunas semillas. Como analizamos anteriormente, el fitocromo se descubrió en estudios de germinación de semillas de lechuga dependiente de luz.

En general, las especies de semillas grandes, con amplias reservas que permiten mantener el crecimiento prolongado de las plántulas en oscuridad (bajo el suelo), generalmente no necesitan luz para germinar. Sin embargo, este requerimiento se observa

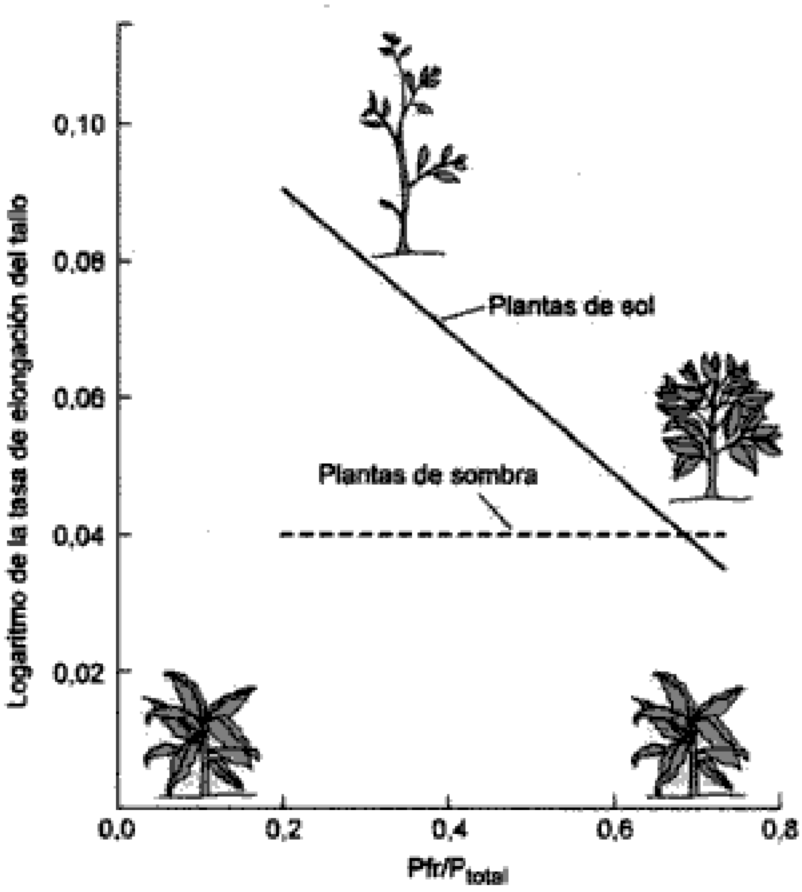


Figura 17.11 Función del fitocromo en la percepción de la sombra en plantas de sol (línea continua) y en plantas de sombra (línea discontinua). (Según Morgan y Smith 1979).

frecuentemente en plantas de especies herbáceas y de pradera de semillas pequeñas, muchas de las cuales permanecen en dormición, incluso mientras se hidratan, si están enterradas por debajo de la profundidad a la que llega la luz. Incluso cuando estas semillas están en la superficie o cerca de ella, el nivel de sombra de la cubierta (por ejemplo, la proporción R:FR que recibe) es probable que afecte a la germinación. Hay ejemplos bien documentados en los que el enriquecimiento en el rojo lejano provocado por la cubierta vegetal inhibe la germinación en especies de semillas pequeñas.

Para las semillas pequeñas de las especies tropicales *Cecropia obtusifolia* y *Piper auritum* plantadas en el suelo de un bosque con sombras profundas, esta inhibición se puede revertir colocando un filtro de luz del rojo sobre las semillas, lo que permite al componente rojo de la luz atravesar la sombra de la cubierta mientras que se bloquea completamente el paso del componente del rojo lejano. Aunque la cubierta transmite muy poca luz del rojo es suficiente para estimular la germinación de las semillas, probablemente debido a que la mayor parte de la luz inhibitoria del rojo lejano es excluida por el filtro y porque la proporción R/FR es muy alta. Estas semillas germinarían con mayor probabilidad en espacios en que recibieran la luz del sol a través de huecos en la cubierta vegetal que en espacios densamente sombreados. La luz del sol ayudaría a asegurar que las plántulas pudieran automantenerse por fotosíntesis antes de que sus reservas se hubieran agotado.

Como analizaremos más adelante en este capítulo, estudios recientes han demostrado que la germinación inducida por la luz del rojo en semillas de lechuga es el resultado de un aumento de los niveles biológicos de la forma activa de la hormona giberelina. Así, el fitocromo puede promover la germinación de la semilla a través de su efecto en la biosíntesis de giberelinas (véase el capítulo 20).

FUNCIONES ECOLÓGICAS: LOS RITMOS CIRCADIANOS

En las plantas, existen varios procesos metabólicos, como la producción de O_2 y la respiración, que oscilan alternativamente con fases de alta y baja actividad con una periodicidad de unas 24 horas. Estos cambios rítmicos se conocen con el nombre de **ritmos circadianos** (del latín *circa diem*, que significa «aproximadamente un día»). El **período** de un ritmo es el tiempo que transcurre entre dos picos sucesivos en el ciclo y como el ritmo continua en ausencia de factores de control externo, se considera que el control ha de ser **endógeno**.

La naturaleza endógena de los ritmos circadianos sugiere que están gobernados por un marcador interno llamado **oscilador**. El oscilador interno está acoplado a una gran variedad de procesos fisiológicos. Una característica importante del oscilador es que no se ve afectado por la temperatura, lo que permite al reloj funcionar correctamente en una gran variedad de estaciones y condiciones climáticas. Se dice que el reloj muestra una **compensación de temperatura**.

La luz es un fuerte modulador de los ritmos tanto en plantas como en animales. Aunque los ritmos circadianos que persisten en las condiciones controladas del laboratorio son una o más horas más largos o más cortos que las 24 horas, en la naturaleza los períodos tienden a acercarse a las 24 horas debido a la coordinación de los efectos de la luz, conocido como **modificación** o **sincronización**. Tanto la luz del rojo como la del azul son efectivas en la sincronización. El efecto de la luz del rojo es fotorreversible por la luz del rojo lejano, indicativo del fitocromo; el efecto de la luz del azul está mediado por el o los fotorreceptor(es) de la luz del azul.

El fitocromo regula los movimientos nocturnos de las hojas

Los movimientos nocturnos de las hojas, conocidos como **nictinastias**, son un ejemplo bien descrito de un ritmo circadiano vegetal regulado por la luz. En la nictinastia, las hojas y/o foliolos se extienden perpendiculares (abiertos) a la luz duran-

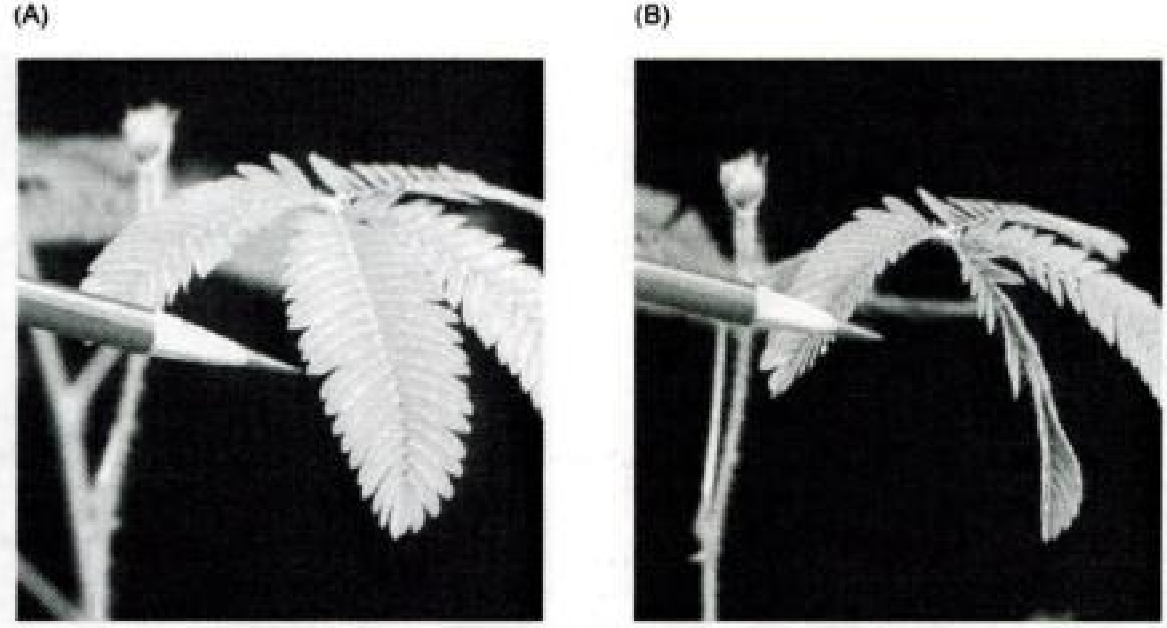


Figura 17.12 Movimientos nictinásticos de las hojas de *Mimosa pudica*. (A) Foliolos abiertos. (B) Foliolos cerrados. (Fotos de © David Sieren/Visuals Unlimited).

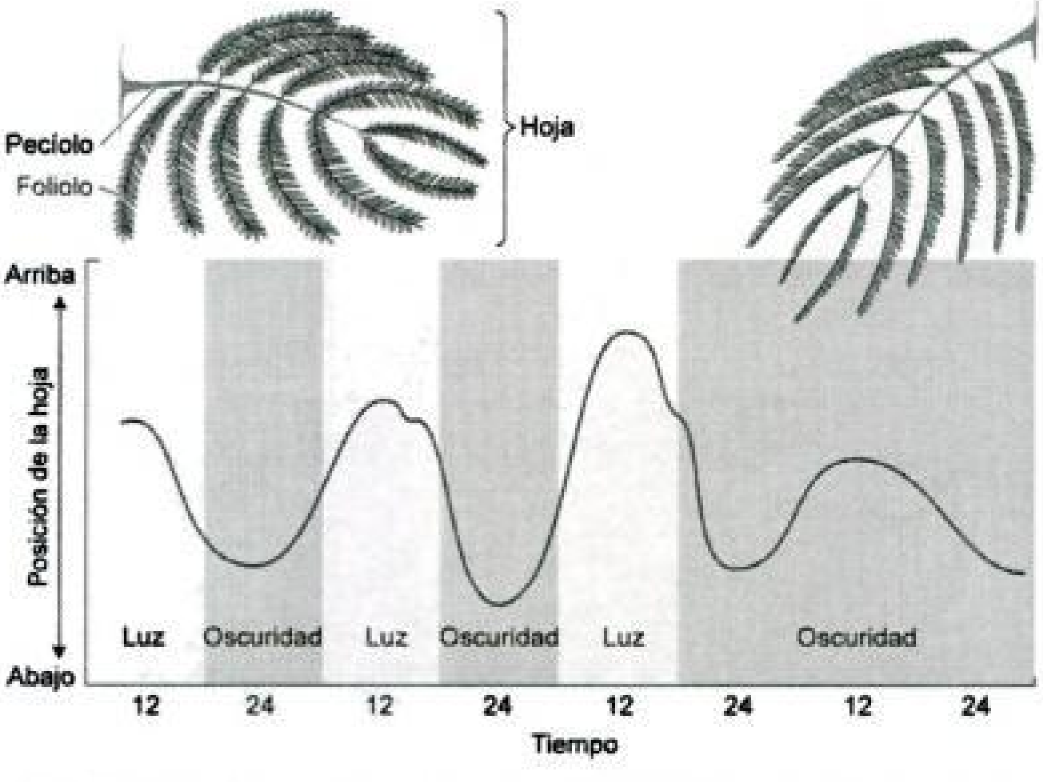


Figura 17.13 Ritmo circadiano en los movimientos de hojas de *Albizia*. Las hojas se alzan por la mañana y se bajan por la noche. De forma paralela a la subida y bajada de las hojas, los foliolos se abren y se cierran. El ritmo persiste a una amplitud inferior durante un tiempo limitado de oscuridad total.

te el día, y paralelos (cerrados) por la noche (Figura 17.12). Los movimientos nictinásticos de la hoja se presentan en muchas leguminosas, como *Mimosa*, *Albizia* y *Samanea*, así como otros miembros de la familia *Oxalis*. El cambio del ángulo de la hoja o foliolo está provocado por cambios de turgencia en las células del **pulvínulo**, una estructura especializada en la base del pecíolo.

Una vez iniciado, el ritmo de apertura y cierre persiste incluso en oscuridad permanente, tanto en plantas enteras como en foliolos aislados (Figura 17.13). La fase de un ritmo (véase el capítulo 24), no obstante, puede ser modificada por varias señales exógenas, como la luz del rojo o del azul.

La luz también afecta directamente a los movimientos: la luz del azul estimula a los foliolos cerrados a abrirse y la luz del rojo seguida de oscuridad provoca que los foliolos abiertos se cierren. Los foliolos empiezan a cerrarse 5 minutos después de haber sido transferidos a la oscuridad, y se cierran completamente en 30 minutos. Como el efecto de la luz del rojo puede ser revertido por la luz del rojo lejano, el fitocromo regula el cierre de los foliolos.

El mecanismo fisiológico del movimiento de la hoja es consecuencia de los cambios en la turgencia de las células localizadas en los lados opuestos del pulvínulo, llamadas **células motoras ventrales** y **células motoras dorsales** (Figura 17.14). Los cambios en la presión de turgencia dependen de los flujos de K^+ y Cl^- a través de las membranas plasmáticas de las células motoras dorsales y ventrales. Los foliolos se abren cuando las células motoras dorsales acumulan K^+ y Cl^-, provocando su hinchamiento, mientras que las células motoras ventrales liberan K^+ y Cl^-, provocando su encogimiento. El proceso contrario provoca el cierre del foliolo. El cierre de los

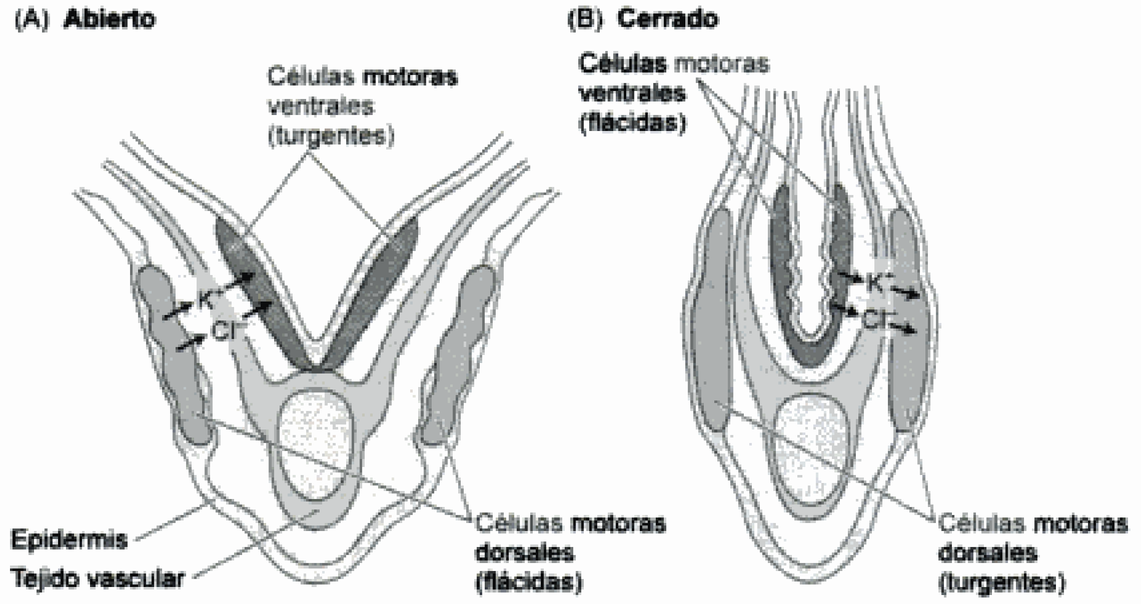

(A) Abierto
Células motoras ventrales (turgentes)
K⁺
Cl⁻
Epidermis
Tejido vascular
Células motoras dorsales (flácidas)
(B) Cerrado
Células motoras ventrales (flácidas)
K⁺
Cl⁻
Células motoras dorsales (turgentes)

Figura 17.14 Los flujos iónicos entre las células motoras dorsales y ventrales de *Albizia pulvini* regulan la apertura y cierre de los foliolos. (Según Galston 1994).

foliolos es por tanto, un ejemplo de una respuesta rápida del fitocromo que implica flujos iónicos a través de las membranas.

La expresión génica y los ritmos circadianos. El fitocromo también puede interactuar con los ritmos circadianos a nivel de la expresión génica. La expresión de genes de la familia *LHCB*, que codifican las proteínas de unión a la clorofila *a/b* del complejo de captura de la luz del fotosistema II, está regulada a nivel transcripcional por los ritmos circadianos y el fitocromo.

En hojas de guisante y trigo, se ha encontrado que el nivel de mRNA de *LHCB* oscila en ciclos diarios de luz-oscuridad, aumentando por la mañana y disminuyendo por la noche. Como el ritmo persiste incluso en completa oscuridad, parece ser un ritmo circadiano. Pero el fitocromo puede perturbar este patrón cíclico de expresión.

Cuando las plantas de trigo se transfieren de un ciclo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad a oscuridad continuada, el ritmo se mantiene durante un tiempo, pero finalmente *se apaga* lentamente (es decir, se reduce en amplitud hasta que no se detectan picos). Sin embargo, si se les proporciona un pulso de luz del rojo a las plantas antes de ser transferidas a oscuridad continuada, no se produce ese descenso (es decir, los valores de mRNA de *LHCB* continúan oscilando como en los ciclos de luz-oscuridad).

Por el contrario, un destello de luz del rojo lejano al final del día evita la expresión de los genes *LHCB* en oscuridad continuada, y el efecto de la luz del rojo lejano es revertido por la luz del rojo. Obsérvese que no es el oscilador el que disminuye en condiciones constantes, sino el acoplamiento del oscilador a los procesos fisiológicos.

Se han identificado los genes del reloj circadiano de *Arabidopsis*

El aislamiento de mutantes del reloj circadiano ha sido importante para la identificación de los genes del reloj en otros organismos. El aislamiento de los mutantes del reloj en plantas necesita un ensayo adecuado que permita seguir los ritmos circadianos de muchos miles de plantas individuales para detectar un fenotipo anormal.

Para permitir la selección de mutantes del reloj, se fusionó la región promotora del gen *LHCB* al gen que codifica la luciferasa, un enzima que emite luz en presencia de su sustrato, la luciferina. Este gen marcador se utilizó para transformar *Arabidopsis* con el plásmido Ti de *Agrobacterium* como vector. Los investigadores estudiaron la regulación temporal y espacial de la bioluminiscencia en plántulas individuales en tiempo real utilizando una videocámara (Millar y col. 1995).

Se han aislado un total de 21 mutantes independientes ***toc*** (del inglés *t*iming *o*f *C*AB [LHCB], medida de la duración de la expresión de los genes CAB [LHCB]), tanto líneas de período corto como de período largo. El mutante *toc1* en particular se ha implicado en el núcleo del mecanismo oscilador (Strayer y col. 2001). Un modelo para el oscilador endógeno se analizará más adelante en este capítulo.

FUNCIONES ECOLÓGICAS: LA ESPECIALIZACIÓN DEL FITOCROMO

El fitocromo está codificado por una familia multigénica: de *PHYA* a *PHYE*. A pesar de la gran similitud de sus estructuras, cada uno de estos fitocromos lleva a cabo diferentes funciones en la planta. En este apartado analizaremos el estado actual de conocimientos de las funciones ecológicas de los diferentes fitocromos, centrándonos en phyA y phyB.

El fitocromo B media las respuestas a la luz continua del rojo o blanca

Al principio se sospechó que el fitocromo B estaba implicado en las respuestas a la luz continua porque los mutantes *hy3* (ahora llamados *phyB*), que tienen hipocotilos largos al crecer con luz blanca continua, tenían el gen *PHYB* alterado. En estos mutantes, el mRNA de *PHYB* se reducía a una mínima cantidad o estaba ausente, y apenas se podía detectar la proteína phyB. Por el contrario, los niveles de mRNA de *PHYA* y de la proteína phyA eran normales.

El fitocromo B origina la respuesta de evitar la sombra a través de la regulación de la longitud del hipocotilo en respuesta a luz del rojo en pulsos de baja fluencia o continuada y, como se esperaría, el mutante *phyB* es incapaz de responder a la sombra aumentando la longitud del hipocotilo. Además, estas plantas no extienden sus hipocotilos en respuesta a la luz del rojo lejano dada al final de cada fotoperíodo (llamado la respuesta al *rojo lejano del final del día*). Ambas respuestas están probablemente implicadas en la percepción de la proporción Pfr:P_{total} y se producen en la región de baja fluencia del espectro. Aunque phyB está implicado fundamentalmente en la respuesta de la planta para evitar la sombra, hay evidencias que sugieren que hay otros fitocromos implicados (Smith y Whitelam 1997).

El mutante *phyB* es deficiente en clorofilas y en algunos mRNA que codifican proteínas de los cloroplastos, y tiene alterada su capacidad de responder a hormonas vegetales. Como una mutación en *PHYB* provoca un daño en la percepción de la luz del rojo continua, la presencia de otros fitocromos no debe ser suficiente como para responder a la luz continua del rojo o blanca.

El fitocromo B también parece regular la germinación fotorreversible de semillas, el fenómeno que originalmente condujo al descubrimiento del fitocromo. Las semillas del genotipo silvestre de *Arabidopsis* necesitan luz para la germinación, y la respuesta muestra la reversibilidad del rojo/rojo lejano en el rango de baja fluencia.

Los mutantes que carecen de phyA responden normalmente a la luz del rojo; los mutantes deficientes en phyB son incapaces de responder a la luz del rojo de baja fluencia (Shinomura y col. 1996). Esta evidencia experimental sugiere que el phyB media la germinación fotorreversible de la semilla.

El fitocromo A es necesario para la respuesta a la luz continua del rojo lejano

En la colección original de *hy* no se encontraron otras mutaciones, excepto *phyB*, por eso la identificación de los mutantes *hy* exigió el desarrollo de búsquedas más ingeniosas. Como se expuso anteriormente, al saberse que las HIRs del rojo lejano necesitaban el fitocromo lábil a la luz (tipo I), se sospechó que phyA debía ser el fotorreceptor implicado en la percepción de luz continua del rojo lejano. Si esto es cierto, los mutantes phyA no deberían responder a la luz continua del rojo lejano y crecer altos y espigados en estas condiciones de luz. Sin embargo, los mutantes que carecieran del cromóforo también deberían mostrar este efecto dado que el phyA puede detectar la luz del rojo lejano sólo cuando está ensamblado con el cromóforo en el holofitocromo.

Para seleccionar los mutantes phyA, las plántulas que crecieron altas con luz continua del rojo lejano fueron cultivadas a continuación con luz continua del rojo. Los mutantes deficientes en phyA pueden crecer normalmente en este régimen, pero un mutante deficiente en el cromóforo, que también carece del phyB funcional, no responde. Las plántulas mutantes *phyA* seleccionadas en esta búsqueda no tenían un fenotipo obvio cuando crecían con luz blanca normal, confirmando que phyA no tiene una función evidente en la percepción de la luz blanca.

Esto también explica por qué los mutantes *phyA* no fueron detectados en la búsqueda original de hipocotilo largo. Así, phyA parece tener una función limitada en la fotomorfogénesis, restringida principalmente a las respuestas de desetiolación y del rojo lejano. Por ejemplo, phyA sería importante cuando las semillas germinaran bajo una cubierta que filtra mucha luz del rojo.

Del fenotipo de luz constante del rojo lejano también se deduce que ninguno de los otros fitocromos es suficiente para la percepción de la luz continua del rojo lejano, y a pesar de la capacidad de todos los fitocromos de absorber la luz del rojo y del rojo lejano, al menos phyA y phyB tienen funciones diferentes en este aspecto.

El fitocromo A también parece estar implicado en la germinación VLFR de semillas de *Arabidopsis*. Así, los mutantes que carecen de phyA no pueden germinar en respuesta a la luz del rojo en el rango de muy baja fluencia, pero muestran una respuesta normal a la luz del rojo en el rango de baja fluencia (Shinomura y col. 1996). Este resultado demuestra que phyA funciona como el fotorreceptor principal para es-

TABLA 17.4
Comparación de las respuestas de muy baja fluencia (VLFR), baja fluencia (LFR) y alta irradiancia (HIR)

Tipo de respuesta	Fotorreversibilidad	Reciprocidad	Picos de los espectros de acción[a]	Fotorreceptor
VLFR	No	Sí	Rojo, azul	phyA, phyE[a]
LFR	Sí	Sí	Rojo, rojo lejano	phyB, phyD, phyE
HIR	No	No	Crecidas en oscuridad: rojo lejano, azul, UV-A Crecidas con luz: rojo	Crecidas en oscuridad: phyA, criptocromo Crecidas con luz: phyB

[a]Se necesita phyE para la germinación de la semilla, pero no para otras respuestas VLFR mediadas por phyA.

ta VLFR, aunque algunas evidencias recientes sugieren que es necesario phyE para la germinación de semillas (Henning y col. 2002).

La tabla 17.4 resume las diferentes funciones de phyA, phyB y otros fotorreceptores en las diversas respuestas mediadas por el fitocromo.

Se están dilucidando las funciones de los fitocromos C, D y E en el desarrollo

Algunas de las funciones de otros fitocromos en el crecimiento y desarrollo vegetal se han descubierto recientemente a través de experimentos con plantas mutantes. Como estos fitocromos tienen funciones que se superponen con las de phyA y phyB, fue necesario la búsqueda de mutantes con el fondo del doble mutante *phyAB* para descubrir otras mutaciones. Por ejemplo, tanto phyD como phyE median la respuesta para evitar la sombra, una repuesta mediada principalmente por phyB.

La creación de dobles y triples mutantes ha permitido asignar la función relativa de cada fitocromo en una respuesta dada. Así se encontró que, al igual que phyB, phyD participa en la regulación de la elongación del pecíolo de la hoja, así como en el momento de la floración (véase el capítulo 24). Análisis similares apoyan la idea de que phyE actúa de forma redundante con phyB y phyD en estos procesos, pero también actúa de forma redundante con phyA y phyB en la inhibición de la elongación de los entrenudos.

De los fitocromos de *Arabidopsis*, phyC es el que está menos caracterizado. Sin embargo, aunque los cuádruples mutantes *phyAphyBphyDphyE* parecen tener respuestas normales a la proporción del rojo:rojo lejano, hay diferencias en la expresión de los genes regulados por el fitocromo.

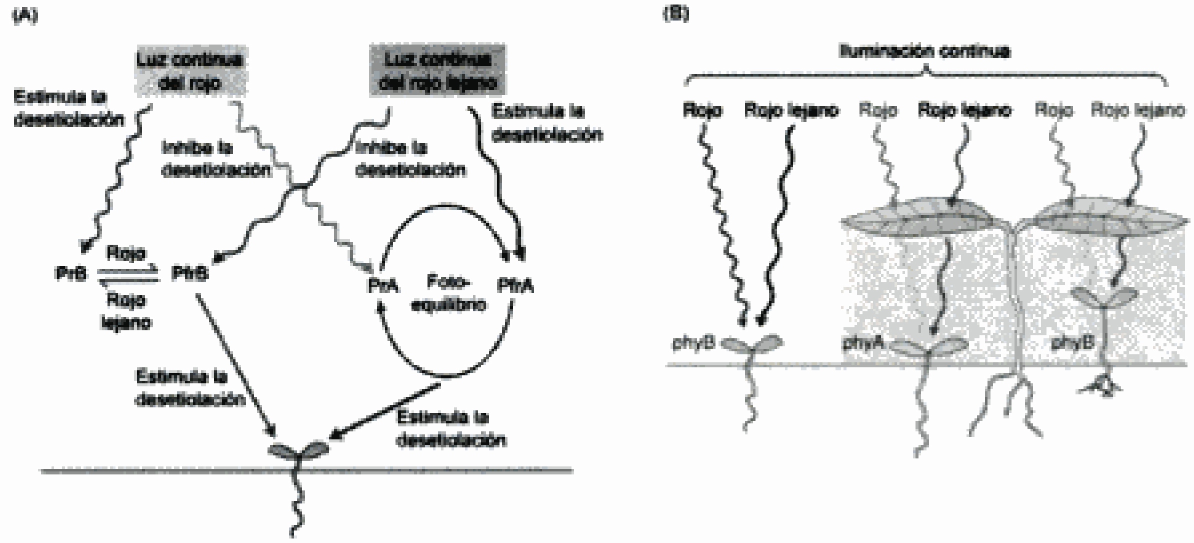

(A)
Luz continua del rojo
Luz continua del rojo lejano
Estimula la desetiolación
Inhibe la desetiolación
Inhibe la desetiolación
Estimula la desetiolación
PrB
Rojo
Rojo lejano
PfrB
PrA
Foto-equilibrio
PfrA
Estimula la desetiolación
Estimula la desetiolación
(B)
Iluminación continua
Rojo
Rojo lejano
Rojo
Rojo lejano
Rojo
Rojo lejano
phyB
phyA
phyB

Figura 17.15 Funciones antagonistas de phyA y phyB. (Según Quail y col. 1995).

En resumen, phyC, phyD y phyE parecen tener funciones que son mayoritariamente redundantes con las de phyA y phyB. Mientras que phyB parece estar implicado en todos los estados de desarrollo, las funciones de los otros fitocromos están restringidas a respuestas o etapas específicas del desarrollo.

Las interacciones de los fitocromos son importantes en las fases tempranas de la germinación

La figura 17.15A muestra la acción de luz continua del rojo y del rojo lejano absorbida separadamente por los sistemas phyA y phyB. La luz continua del rojo absorbida por phyB estimula la desetiolación manteniendo los niveles altos de PfrB. La luz continua del rojo lejano absorbida por PfrB evita esta estimulación al reducir los niveles de PfrB. La estimulación de la desetiolación por phyA depende del estado fotoestacionario del fitocromo (indicado en la figura 17.15A por flechas circulares). La luz continua del rojo lejano estimula la desetiolación cuando es absorbida por el sistema phyA; la luz continua del rojo inhibe la respuesta.

Los efectos de phyA y phyB sobre el desarrollo de las plántulas a la luz del sol frente a la sombra de la cubierta vegetal (enriquecida en luz del rojo lejano) se muestra en la figura 17.15B. Con la luz del sol directa, que está enriquecida en luz del rojo comparada con la sombra de la cubierta vegetal, la desetiolación está mediada principalmente por el sistema phyB (a la izquierda de la figura). Una plántula emergente bajo la sombra de la cubierta vegetal, enriquecida en luz del rojo lejano, inicia la desetiolación principalmente a través del sistema phyA (centro). Como phyA es lábil, no obstante, la respuesta es sustituida por phyB (derecha). Al reemplazarse por phyB, el tallo se libera de la inhibición del crecimiento (véase la figura 17.15A), permitiendo la aceleración de la elongación del tallo, que es parte de la respuesta para evitar la sombra (véase el **tema web 17.4**).

Para un análisis sobre cómo las plantas perciben a sus vecinas utilizando la luz reflejada, véase el **ensayo web 17.2**.

DOMINIOS FUNCIONALES DEL FITOCROMO

Antes de la identificación de las diferentes formas del fitocromo era difícil comprender cómo un único fotorreceptor podía regular procesos tan diversos en las células. Sin embargo, el descubrimiento de que el fitocromo está codificado por los miembros de una familia multigénica, cada uno de los cuales con su propio patrón de expresión, proporcionó una explicación alternativa más plausible: cada respuesta mediada por el fitocromo está regulada por un fitocromo específico o por interacciones entre fitocromos específicos. Como analizamos anteriormente, los fenotipos de los mutantes deficientes en phyA o en phyB confirman esta hipótesis.

Como corolario de esta hipótesis, se postuló que regiones específicas de las proteínas PHY debían estar especializadas en las diferentes funciones. La biología molecular proporciona las herramientas para contestar estas difíciles cuestiones. En esta sección describiremos lo que se conoce sobre los dominios funcionales de la holoproteína del fitocromo.

Así como las mutaciones que *reducen* la cantidad de un fitocromo particular han aportado información sobre su función, también son útiles las plantas que han sido modificadas genéticamente para *sobreexpresar* un fitocromo específico. En primer lugar, permiten la extensión del rango de los niveles de fitocromo cuantificables en relación con su función. En segundo lugar, como veremos, una secuencia particular de un fitocromo puede ser cambiada y reintroducida en una planta normal para probar sus efectos fenotípicos.

Normalmente las plantas que sobreexpresan el gen *PHYA* o *PHYB* tienen un fenotipo drásticamente alterado. Estas plantas transgénicas suelen ser enanas, de color verde oscuro y tienen elevados niveles de clorofilas y muestran una dominancia apical reducida. Este fenotipo requiere niveles elevados de una holoproteína intacta y fotoactiva porque la sobreexpresión de una forma mutada del fitocromo que es incapaz de combinarse con su cromóforo tiene un fenotipo normal. Del mismo modo, las plantas que expresan sólo el dominio N-terminal de cada fitocromo tienen un fenotipo normal, aunque acumulan niveles elevados del fragmento fotoactivo.

Aunque la sobreexpresión proteica perturba notablemente el metabolismo normal de una célula y por tanto está sujeta a ciertos artificios, estos estudios de estructura y función han ayudado a caracterizar el fitocromo como una molécula que tiene dos

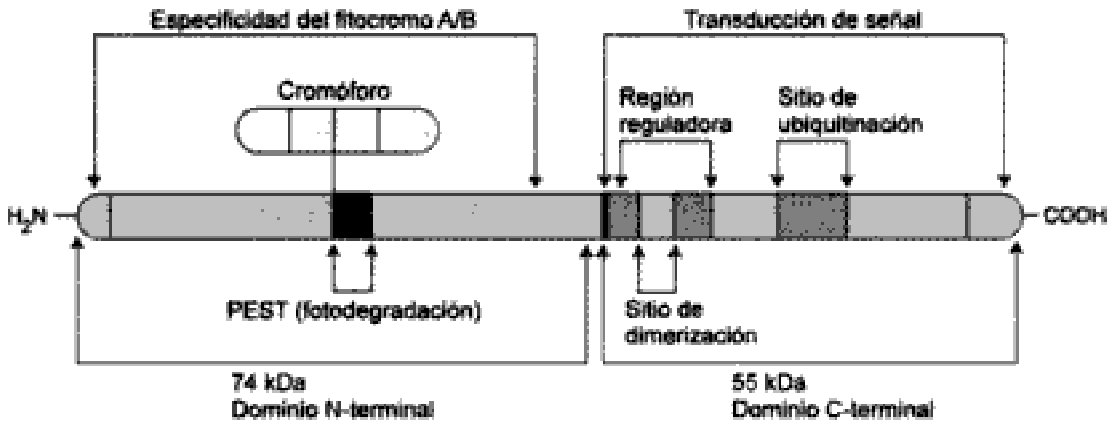


Figura 17.16 Diagrama esquemático de la holoproteína del fitocromo, mostrando los diversos dominios funcionales. El sitio de unión al cromóforo y la secuencia PEST están localizadas en el dominio N-terminal, que es el que confiere la especificidad fotosensible a la molécula, es decir, si responde a la luz continua del rojo o del rojo lejano. El dominio C-terminal contiene un sitio de dimerización, un sitio de ubiquitinación y una región reguladora. El dominio C-terminal transmite las señales a las proteínas reguladas por el fitocromo.

dominios unidos por una bisagra: un dominio N-terminal sensible a la luz en el que reside la especificidad a la luz y la estabilidad, y un dominio C-terminal que contiene las secuencias de transducción de señal (Figura 17.16).

El dominio C-terminal también contiene el sitio para la formación de dímeros de fitocromo y el sitio para la unión de ubiquitina, el marcaje para la degradación. (Para una descripción más detallada de los experimentos que ayudaron a rastrear los dominios funcionales del fitocromo, véase el **tema web 17.5**).

MECANISMOS CELULARES Y MOLECULARES

Todos los cambios en las plantas regulados por el fitocromo comienzan con la absorción de luz por el pigmento. Después de la absorción de luz, se alteran de algún modo las propiedades moleculares del fitocromo provocando probablemente que las secuencias transmisoras de señal en el extremo C-terminal interaccionen con uno o más componentes de una ruta de transducción de señal que, en último término, provocan un cambio en el crecimiento, desarrollo o en la posición de un órgano (véase la tabla 17.1).

Algunos de los motivos de transducción de señal parecen interactuar con múltiples rutas de transducción de señal; otras parecen ser únicas para una ruta específica. Además, es razonable asumir que las diferentes proteínas del fitocromo utilicen diferentes grupos de rutas de transducción de señal.

Las técnicas moleculares y bioquímicas están ayudando a establecer las primeras etapas de la acción del fitocromo y de las rutas de transducción de señal que conducen a las respuestas fisiológicas o del desarrollo. Estas respuestas se pueden agrupar en dos categorías:

1. Respuestas de turgencia relativamente rápidas, que implican flujos iónicos.
2. Procesos más lentos a largo plazo asociados con la fotomorfogénesis, que implican alteraciones en la expresión génica.

En esta sección examinaremos los efectos del fitocromo sobre la permeabilidad de membrana y la expresión génica, así como los posibles acontecimientos en cadena de la ruta de transducción de señal que provocan estos efectos.

El fitocromo regula los potenciales de membrana y los flujos iónicos

El fitocromo puede alterar rápidamente las propiedades de las membranas. Ya hemos visto que se necesita luz del rojo de baja fluencia antes del período de oscuridad para inducir el rápido cierre del foliolo durante la nictinastia, y que los flujos de K^+ y Cl^- de entrada y de salida de las células motoras dorsales y ventrales median esta respuesta. Sin embargo, la rapidez del cierre de la hoja en la oscuridad (con un período de latencia de unos 5 minutos) parecería descartar los mecanismos basados en la expresión génica. Por el contrario, los cambios rápidos en la permeabilidad y en el transporte de membrana parecen estar inducidos por el fitocromo.

Durante el cierre del foliolo mediado por el fitocromo, el pH apoplástico de las células motoras dorsales (las células que se hinchan durante el cierre del foliolo) disminuye, mientras que el pH de las células motoras ventrales (que se encogen durante el cierre del foliolo) aumenta. Así, la bomba de H^+ de la membrana plasmática de las células dorsales parece ser activada por la oscuridad (dado que el fitocromo está en la forma Pfr) y la bomba de H^+ de la membrana plasmática de las células ventrales parece estar desactivada en las mismas condiciones (véase la figura 17.14). Durante la apertura del foliolo se observa el fenómeno inverso en los cambios del pH apoplástico.

También se han realizado estudios sobre la regulación de canales de K^+ por el fitocromo en protoplastos aislados (células sin sus paredes celulares) de células motoras dorsales y ventrales de hojas de *Samanea* (Kim y col. 1993). Cuando se aumentaban las concentraciones extracelulares de K^+, el K^+ entraba en los protoplastos y despolarizaba el potencial de membrana sólo si los canales de K^+ estaban abiertos. Cuando los protoplastos de las células motoras dorsales y ventrales fueron transferidas a oscuridad constante, los canales de K^+ mostraron un ritmo circadiano en su apertura durante un período de incubación de 21 horas, y los dos tipos de células cambiaron recíprocamente, tal y como lo hacen in vivo. Es decir, cuando los canales de K^+ de las células dorsales estaban abiertos, los canales de K^+ de las células ventrales estaban cerrados, y viceversa. Así el ritmo circadiano de los movimientos de las hojas tiene su origen en el ritmo circadiano de la apertura de los canales de K^+.

En base a estas evidencias, podemos concluir que el fitocromo provoca el cierre del foliolo por regulación de las actividades de las bombas primarias de protones y de los canales de K^+ en las células motoras dorsales y ventrales. Aunque el efecto es rápido, no es instantáneo, y por tanto es improbable que sea debido al efecto directo del fitocromo sobre la membrana. En cambio, el fitocromo actúa indirectamente a través de una o más rutas de transducción de señal, como en el caso de la regulación de la expresión génica (véase la sección siguiente).

Sin embargo, algunos efectos de la luz del rojo y del rojo lejano sobre el potencial de membrana son tan rápidos que el fitocromo debe interactuar directamente con la membrana. Esta modulación tan rápida se ha medido directamente en células individuales y también se ha deducido de los efectos rápidos de la luz del rojo y del rojo lejano sobre el potencial de membrana de raíces y coleóptilos de avena (*Avena)*, donde el período de latencia entre la producción de Pfr y el inicio de los cambios cuantificables de potencial es de 4,5 s para la hiperpolarización.

Los cambios en el potencial bioeléctrico de las células implican cambios en el flujo de iones a través de la membrana plasmática (véase el **tema web 17.6**). Los estudios de aislamiento de membranas proporcionan evidencias de que una pequeña parte del fitocromo total está fuertemente unida a varias membranas de orgánulos.

Estos hallazgos condujeron a algunos investigadores a sugerir que el fitocromo unido a las membranas representa la fracción fisiológicamente activa, y que todos los efectos del fitocromo sobre la expresión génica se inician por cambios en la permeabilidad de membrana. El análisis de secuencias ha permitido determinar que el fitocromo es una proteína hidrofílica sin dominios transmembrana. Actualmente se postula que debe estar asociado a microtúbulos localizados directamente bajo la membrana plasmática, al menos en el caso del alga *Mougeotia*, tal y como se describe en el **tema web 17.2**.

Si el fitocromo ejerce su efecto sobre las membranas a una cierta distancia, no importa lo pequeña que sea, la implicación de un *segundo mensajero* es implícita, y el calcio es un buen candidato. Los rápidos cambios del calcio citosólico libre han sido implicados como segundo mensajero en muchas rutas de transducción de señal, y hay evidencias de que el calcio está implicado en los movimientos de los cloroplastos de *Mougeotia*.

El fitocromo regula la expresión génica

Tal y como indica el término *fotomorfogénesis*, el desarrollo vegetal está profundamente influenciado por la luz. Los síntomas de etiolación incluyen tallos largos, hojas pequeñas (en dicotiledóneas) y ausencia de clorofila. La completa reversión de estos síntomas por la luz implica alteraciones a largo plazo en el metabolismo que pueden llevarse a cabo sólo por cambios en la expresión génica.

La estimulación y la represión de la transcripción por la luz pueden ser muy rápidas, con períodos de latencia de tan solo 5 minutos. Esta rápida expresión génica es probable que sea regulada por la activación directa de factores de transcripción a una o más rutas de transducción de señal iniciadas por el fitocromo. Los factores de transcripción activados entran entonces en el núcleo, y estimulan la transcripción de genes específicos.

Algunos de estos productos génicos tempranos son factores de transcripción, que activan la expresión de otros genes. La expresión de los genes tempranos, también llamados **genes de respuesta primaria**, es independiente de la síntesis de proteínas; la expresión de los genes tardíos, o **genes de respuesta secundaria**, requiere la síntesis de nuevas proteínas.

La fotorregulación de la expresión génica se ha centrado en los genes nucleares que codifican mensajeros de las proteínas del cloroplasto: la subunidad pequeña de la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (rubisco) y las proteínas de unión a clorofila *a/b* del complejo de captura de la luz del fotosistema II (proteínas LHCIIb). Estas proteínas juegan un papel importante en el desarrollo del cloroplasto y en el reverdecimiento; por tanto, su regulación por el fitocromo se ha estudiado con detalle. Los genes para los dos tipos de proteínas (*RBCS* y *LHCB*, también llamadas *CAB* en algunos estudios), están presentes en múltiples copias en el genoma.

Podemos comprobar experimentalmente la regulación por el fitocromo a partir de la abundancia de su mRNA (por ejemplo, el mRNA de *RBCS*), dando a plantas etioladas un breve pulso de luz de baja fluencia del rojo o del rojo lejano, volviendo a ponerlas en oscuridad para permitir que actúe la ruta de transducción de señal, y midiendo entonces la abundancia de un mRNA específico respecto al mRNA total de la planta. Si su abundancia está regulada por el fitocromo, entonces el mRNA está ausente o presente en bajos niveles en las plantas etioladas, aunque se verá aumentado por la luz del rojo. El aumento en la expresión inducido por la luz del rojo puede ser revertido por un tratamiento inmediato con luz del rojo lejano, aunque la luz del rojo lejano tiene muy poco efecto sobre la abundancia del mRNA. La expresión de otros genes está inhibida en estas condiciones.

Recientemente la estimulación de la germinación de semillas de lechuga por la luz del rojo se ha correlacionado con un aumento de la forma biológicamente activa de las giberelinas. La luz del rojo provoca un gran aumento de la expresión de los enzimas de la ruta biosintética de las giberelinas (Toyomasu y col. 1998). El efecto de la luz del rojo es revertido por un tratamiento con luz del rojo lejano, indicativo del fitocromo. Como las giberelinas pueden sustituir a la luz del rojo en la promoción de la germinación de semillas de lechuga, parece que el fitocromo promueve la germinación de semillas por un aumento de la biosíntesis de esta hormona. Las giberelinas se analizarán con detalle en el capítulo 20.

En el **tema web 17.7** hay un análisis más extenso.

Tanto el fitocromo como el ritmo circadiano regulan *LHCB*

Un factor de transcripción relacionado con *MYB* cuyos niveles de mRNA aumentan rápidamente cuando se transfieren plantas de *Arabidopsis* desde la oscuridad a la luz está implicado en la expresión de genes *LHCB* mediada por el fitocromo (Figura 17.17). (Para más información sobre MYB, véase el capítulo 14 en la página web.)

Este factor de transcripción parece unirse al promotor de ciertos genes *LHCB* y regular su transcripción, que, como muestra la figura 17.17, se produce más tarde que el aumento de la proteína tipo MYB (Wang y col. 1997). El gen que codifica la proteína relacionada MYB es probablemente un gen de respuesta primaria, y el gen *LHCB* por sí mismo es probablemente un gen de respuesta secundaria.

Trabajos recientes han indicado que la proteína tipo *MYB*, ahora conocida como *circadian clock associated 1* (*CCA1*, del inglés *c*ircadian *c*lock *a*ssociated *1*, reloj circadiano ahocicado 1), también participa en la regulación circadiana de la expresión del gen *LHCB*. Una segunda proteína tipo MYB, diferente de CCA1, *l*ate elongated *hy*pocotyl (*LHY*, del inglés *l*ate elongated *hy*pocotyl, hipocotilo elongado tardíamente), también se ha identificado como un gen potencial del reloj. La expresión de *CCA1* y *LHY* varía con un ciclo circadiano. La expresión constitutiva de CCA1 elimina varios ritmos circadianos, y suprime la expresión de *CCA1* y *LHY*. Cuando el gen *CCA1* es mutado de manera que no se produce una proteína funcional, la regulación de cuatro genes circadianos y del fitocromo, incluido *LHCB* se altera. Estas observaciones sugieren que *CCA1* y *LHY* están asociados con el reloj circadiano.

Una proteína quinasa (CK2) puede interactuar con *CCA1* y fosforilarla. La quinasa CK2 es una proteína muchas subunidades con actividad serina/treonina quina-

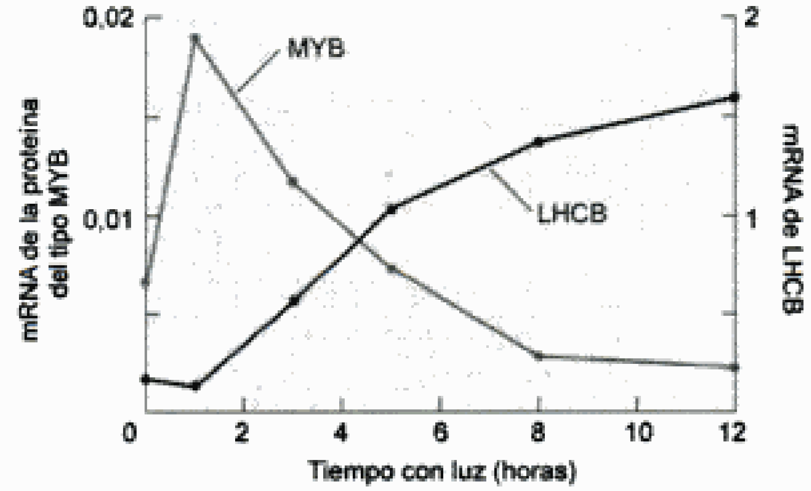


Figura 17.17 Evolución temporal de la inducción de la transcripción. Las cinéticas de inducción de mensajeros de un factor de transcripción tipo MYB (MYB) y las proteínas de unión a las clorofilas *a/b* del complejo de captura de la luz (LHCB) en *Arabidopsis* después de que las plántulas sean transferidas desde la oscuridad a la luz blanca continua. (Según Wang y col. 1997)

sa. Se ha demostrado que la subunidad reguladora de CK2 (CKB3) interacciona con *CCA1* y la fosforila in vitro. Mutaciones en CKB3 tienen también la capacidad de perturbar la actividad de CK2, y cambiar el período de expresión rítmica de *CCA1*. Estas mutaciones afectan a muchas respuestas asociadas al reloj, desde expresión génica al momento de la floración, sugiriendo que CK2 está implicada en la regulación del reloj circadiano a través de sus interacciones con *CCA1* (Sugano y col. 1999).

El oscilador circadiano implica un bucle transcripcional de retroalimentación negativa

Se han caracterizado osciladores circadianos de cianobacterias (*Synechococcus*), hongos (*Neurospora crassa*), insectos (*Drosophila melanogaster*) y ratones (*Mus musculus*). En estos cuatro organismos, el oscilador está formado por varios «genes del reloj» implicados en un bucle transcripcional-traduccional de retroalimentación negativa.

Hasta ahora se han identificado tres genes del reloj importantes en *Arabidopsis*: *TOC1*, *LHY* y *CCA1*. Los productos proteicos de todos estos genes son proteínas reguladoras. *TOC1* no está relacionado con los genes del reloj de los otros organismos, sugiriendo que el oscilador de plantas es único.

De acuerdo con un modelo reciente (Alabadi y col. 2001), la luz y la proteína reguladora TOC1 activan la expresión de los genes LHY y CCA1 al amanecer (Figura 17.18). Un aumento de LHY y CCA1 reprimen la expresión del gen *TOC1*. Como

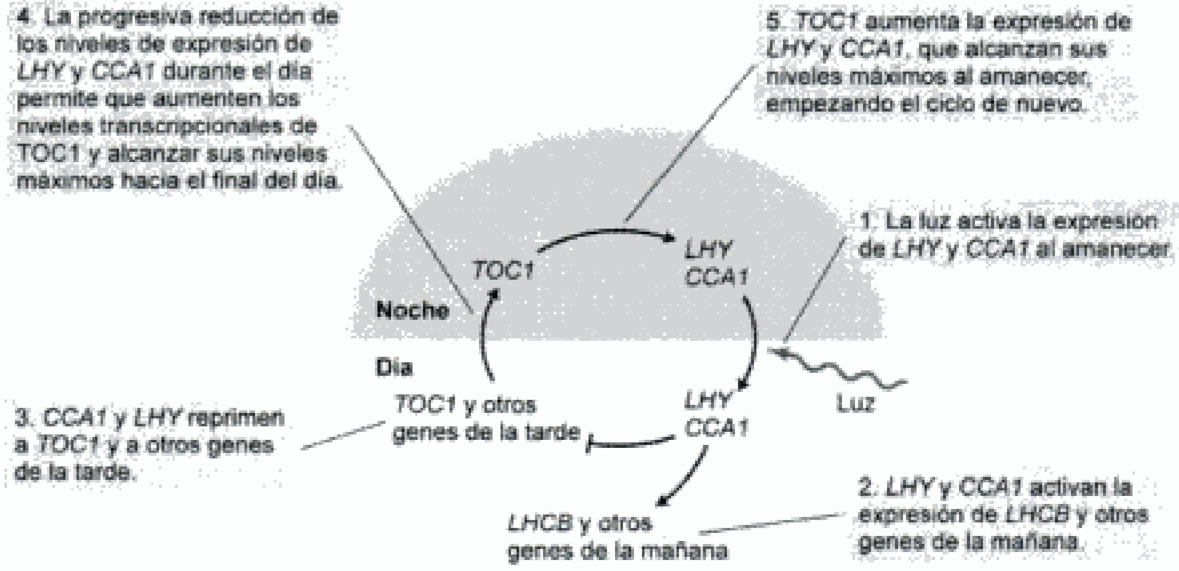

4. La progresiva reducción de los niveles de expresión de *LHY* y *CCA1* durante el día permite que aumenten los niveles transcripcionales de TOC1 y alcanzar sus niveles máximos hacia el final del día.
5. *TOC1* aumenta la expresión de *LHY* y *CCA1*, que alcanzan sus niveles máximos al amanecer, empezando el ciclo de nuevo.
1. La luz activa la expresión de *LHY* y *CCA1* al amanecer.
TOC1
LHY
CCA1
Noche
Día
TOC1 y otros genes de la tarde
LHY
CCA1
Luz
3. *CCA1* y *LHY* reprimen a *TOC1* y a otros genes de la tarde.
LHCB y otros genes de la mañana
2. *LHY* y *CCA1* activan la expresión de *LHCB* y otros genes de la mañana.

Figura 17.18 Modelo del oscilador circadiano mostrando las hipotéticas interacciones entre el gen *TOC1* y los genes *MYB* (*LHY* y *CCA1*). La luz actúa al amanecer provocando un aumento en la expresión de los genes *LHY* y *CCA1*. *LHY* y *CCA1* regulan otros genes del día y de la tarde.

TOC1 es un regulador positivo de la los genes *LHY* y *CCA1*, la represión de *TOC1* provoca una reducción progresiva de los niveles de LHY y CCA1, que alcanza su nivel mínimo al final del día. A medida que LHY y CCA1 disminuyen, la expresión génica de TOC1 se ve liberada de su inhibición. TOC1 alcanza su máximo al final del día, cuando LHY y CCA1 están en sus mínimos. Entonces, TOC1 estimula, directa o indirectamente, la expresión de LHY y CCA1 y se inicia de nuevo el ciclo.

Las dos proteínas reguladoras MYB (LHY y CCA1) tienen una doble función. Además de funcionar como componentes del oscilador, regulan la expresión de otros genes, como *LHCB* y otros «genes de la mañana» y reprimen la expresión de genes que se expresan por la noche. La luz actúa reforzando el efecto del gen *TOC1* sobre la promoción de la expresión de *LHY* y *CCA1*. Este refuerzo representa un mecanismo subyacente de la *sincronización*. Otras proteínas, como la CK2 quinasa, afectan a la actividad de CCA1, y así regulan el reloj. El fitocromo y el fotorreceptor de la luz del azul CRY2 (véase el capítulo 18) median los efectos de la luz del rojo y del azul, respectivamente.

Las secuencias reguladoras controlan la transcripción regulada por la luz

Se han estudiado extensamente las secuencias reguladoras que actúan en *cis* y que son necesarias para regular la expresión génica por la luz. La mayoría de los promotores de genes eucariotas tienen dos regiones funcionalmente diferentes: una secuencia corta que determina el sitio de inicio de la transcripción (la **caja TATA**, llamada así por sus nucleótidos más abundantes) y unas secuencias en dirección 5', llamadas **elementos reguladores *que actúan en cis***, que regulan la cantidad y el patrón de transcripción (véase el capítulo 14 en la página web). Estas secuencias reguladoras se unen a proteínas específicas, llamadas **factores que actúan en *trans***, que modulan la actividad general de los factores de transcripción que se ensamblan alrededor del sitio de inicio de la transcripción con la RNA polimerasa II.

En general, la estructura de los promotores vegetales regulados por la luz es similar a la de otros genes eucariotas: una colección de elementos modulares, el número y posición de secuencias flanqueantes y actividades que pueden conducir a una gran variedad de patrones transcripcionales. No hay ninguna secuencia de DNA o proteína de unión que sea común a todos los genes regulados por el fitocromo.

En principio, puede parecer una paradoja que los genes regulados por la luz tengan tal rango de elementos; cualquier combinación de los cuales puede proporcionar una expresión regulada por la luz. Sin embargo, este abanico de secuencias permite la regulación diferencial de la luz y específica de tejidos de muchos genes a través de la acción de múltiples fotorreceptores. (Para un análisis más extenso, véase el **tema web 17.8**).

Factores reguladores. Como cabría esperar, las numerosas secuencias reguladoras del fitocromo pueden unirse a una amplia variedad de factores de transcripción. Recientemente se han identificado al menos 50 de estos factores reguladores utilizando técnicas de rastreo genético y molecular (Tepperman y col. 2001).

Aunque algunas de las rutas de señalización que actúan tempranamente son específicas de phyA o phyB, es evidente que las rutas de señalización que actúan tardíamente deben ser comunes a múltiples fotorreceptores porque diferentes calidades de la luz pueden desencadenar la misma respuesta (Chory y Wu 2001).

Por ejemplo, SPA1 es un intermediario específico de phyA que actúa como represor de la fotomorfogénesis dependiente de la luz en plántulas de *Arabidopsis* (Hoecker y Quail 2001). La proteína SPA1 tiene un dominio proteico en superhélice que le permite interactuar con el factor COP1 (del inglés *co*nstitutive *p*hotomorphogenesis *1*, fotomorfogénesis constitutiva 1), que actúa corriente abajo tanto de phyA como de phyB. La proteína COP1 se ha identificado rastreando mutantes constitutivos de la fotomorfogénesis, y ha permitido identificar otros factores que actúan corriente abajo de los fotorreceptores (véase el **tema web 17.9**). COP1 es una ubiquitina ligasa E3 que marca otras proteínas para su destrucción por el proteasoma (véase el capítulo 14 en la página web).

Las funciones de muchos de estos factores probablemente son moduladas por la acción de HY5, una proteína que fue identificada rastreando el mutante de hipocotilo largo, analizado anteriormente en este capítulo. HY5 es un factor transcripcional de tipo cremallera de leucina que siempre se localiza en el núcleo (véase el capítulo 14 en la página web). HY5 se une al motivo caja G de múltiples promotores inducibles por la luz y es necesario para la expresión óptima de los correspondientes genes. En la oscuridad, HY5 está ubiquitinada por COP1 y es degradada por el complejo proteasoma 26S.

El fitocromo se mueve hacia el núcleo

Durante mucho tiempo se desconoció el mecanismo de acción del fitocromo en el núcleo, cuando está aparentemente localizado en el citoplasma. Unos fascinantes trabajos recientes han aclarado el misterio del nexo entre el fitocromo y la expresión génica. El hallazgo más sorprendente es que, en algunos casos, el fitocromo mismo se traslada al núcleo, en un movimiento que es dependiente de la luz.

La detección de este movimiento se basó en la capacidad del fitocromo de fusionarse con un marcador fluorescente, **la proteína verde fluorescente (GFP)**, que puede ser activada irradiando las células vegetales con luz de una determinada longitud de onda. Una gran ventaja de las fusiones GFP es que pueden visualizarse en células vivas, haciendo posible seguir los procesos dinámicos en la célula bajo el microscopio.

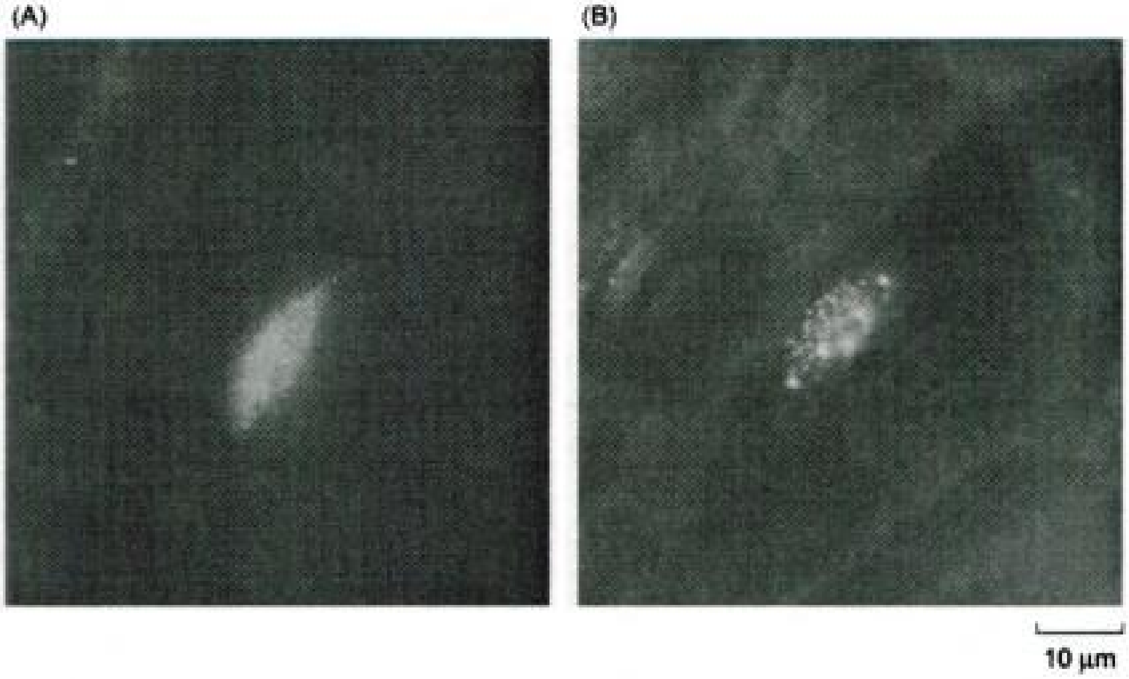
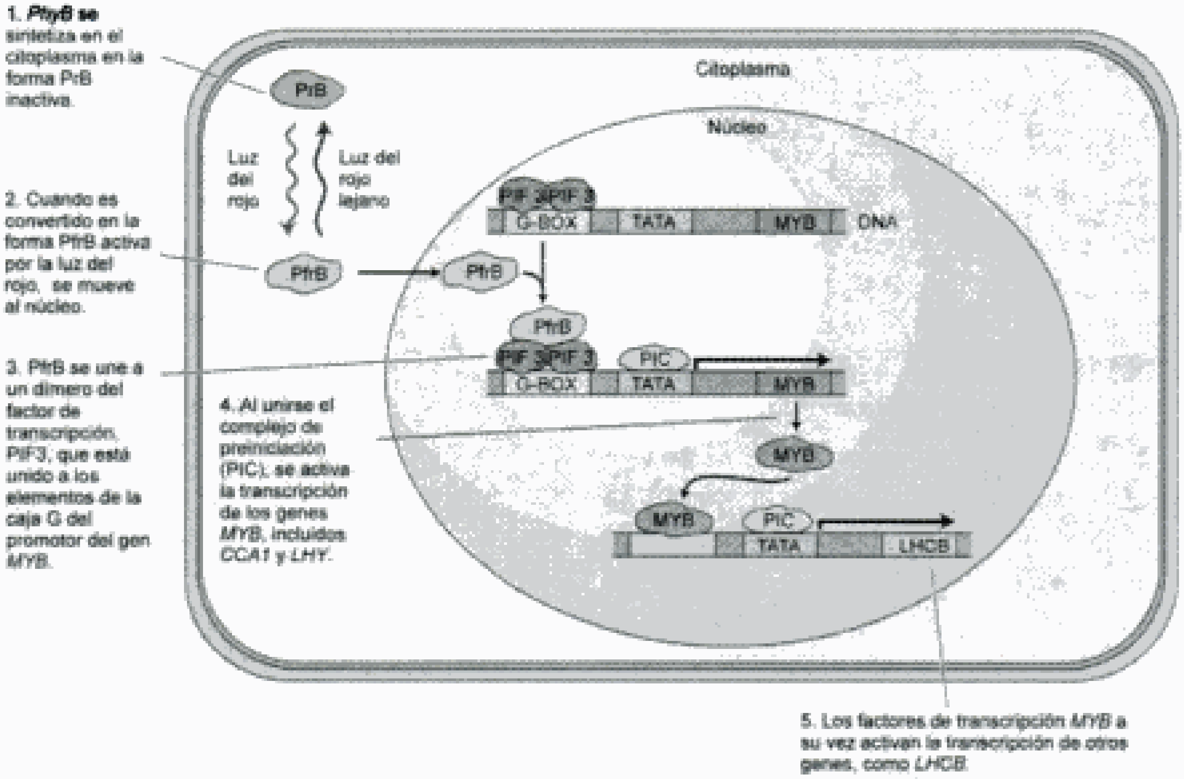


Figura 17.19 Localización nuclear de las proteínas de fusión phy-GFP en células epidérmicas de epicótilos de *Arabidopsis*. Se estudiaron plantas transgénicas de *Arabidopsis* expresando phyA-GFP (izquierda) o phyB-GFP (derecha) en un microscopio de fluorescencia. Sólo son visibles los núcleos. Las plantas fueron colocadas bajo luz continua del rojo lejano (izquierda) o luz blanca (derecha) para inducir la acumulación nuclear. Las manchas verdes brillantes dentro del núcleo son las llamadas «motas». Se desconoce el significado de estas motas. (Según Yamaguchi y col. 1999, cortesía de A. Nagatani). (Véase la fotografía en color en el CD).

Tanto phyA-GFP como phyB-GFP mostraron una entrada al núcleo activada por la luz (Figura 17.19) (Sakamoto y Nagatani 1996; Sharma 2001). La fusión phyB se mueve hacia el núcleo sólo en la forma Pfr, y el transporte es lento, necesitando varias horas para el transporte completo. Por el contrario, phyA-GFP se puede mover en la forma Pfr o Pr, siempre que haya pasado por la forma Pfr. El movimiento de phyA-GFP es mucho más rápido que el phyB-GFP, necesitando sólo unos 15 minutos.

También se constató que el transporte phyB-GFP está promovido por la luz del rojo e inhibido por la luz del rojo lejano, mientras que el transporte de phyA-GFP es máximo en condiciones de luz del rojo lejano continuada. Más aún, el transporte de phyB hacia el núcleo está bajo el control circadiano, como cabría esperar, dado que phyB regula la expresión de los genes regulados por el reloj circadiano. Estas condiciones de luz se sabe que son las responsables de la activación de phyA y phyB, y sería coherente con su actividad en el núcleo.

¿Qué ocurre cuando Pfr se traslada hacia el núcleo? Hasta la fecha se han identificado dos proteínas nucleares que interaccionan con el fitocromo, aunque probablemente existen otras dianas adicionales. La primera, el ***factor 3 de interacción con el fitocromo*** (**PIF3**), que reacciona con el extremo C-terminal de phyA o phyB. Sin embargo, reacciona preferiblemente con la proteína completa de phyB de forma de-



1. *PhyB* se sintetiza en el citoplasma en la forma PrB inactiva.

2. Cuando es convertido en la forma PfrB activa por la luz del rojo, se mueve al núcleo.

3. PfrB se une a un dímero del factor de transcripción, PIF3, que está unido a los elementos de la caja G del promotor del gen *MYB*.

4. Al unirse el complejo de preiniciación (PIC), se activa la transcripción de los genes *MYB*, incluidos *CCA1* y *LHY*.

5. Los factores de transcripción *MYB* a su vez activan la transcripción de otros genes, como *LHCB*.

Figura 17.20 Regulación directa de la expresión génica por el transporte de phyB al núcleo. (Según Quail 2000).

pendiente de la luz y se cree que esta asociación permite que el fitocromo desarrolle su función.

Aunque no se conoce su función exacta, PIF3 se parece a los factores de transcripción que se unen a un elemento particular en los promotores vegetales, el motivo caja G, que proporciona a los genes una regulación por la luz. También se sabe que phyB en la forma Pfr puede formar un complejo con PIF3 unido a su DNA diana. La hipótesis actual es que algunos genes regulados por el fitocromo se activan directamente por el movimiento de phyB hacia el núcleo en la forma Pfr. Una vez en el núcleo, phyB interacciona con los factores de transcripción como PIF3. En la figura 17.20 se muestra un modelo para la activación directa de la expresión génica por PIF3 en el núcleo.

El fitocromo actúa a través de múltiples rutas de transducción de señal

Utilizando aproximaciones bioquímicas, los investigadores han demostrado que la señalización implica diferentes mecanismos, que incluyen proteínas G, Ca^{2+} y fosforilación. Consideraremos a continuación las evidencias de cada uno de ellos.

Las proteínas G y el calcio. Las rutas de señalización que están bien caracterizadas en otros sistemas (como en la conjugación de levaduras) incluyen a las **proteínas G** (que se revisaron en el capítulo 14 en la página web). Estos complejos proteicos normalmente están asociados a la membrana, tienen tres subunidades diferentes, y una de ellas une GDP o GTP. La hidrólisis del GTP es necesaria para la regulación de la función de la proteína G. Se han clonado las secuencias que codifican las subunidades de las proteínas G de algunas plantas, indicando que este tipo de sistema está presente. Una forma de probar la función de las proteinas G es tratar a las células con compuestos químicos que activan o inactivan la capacidad del complejo de unir o degradar GTP.

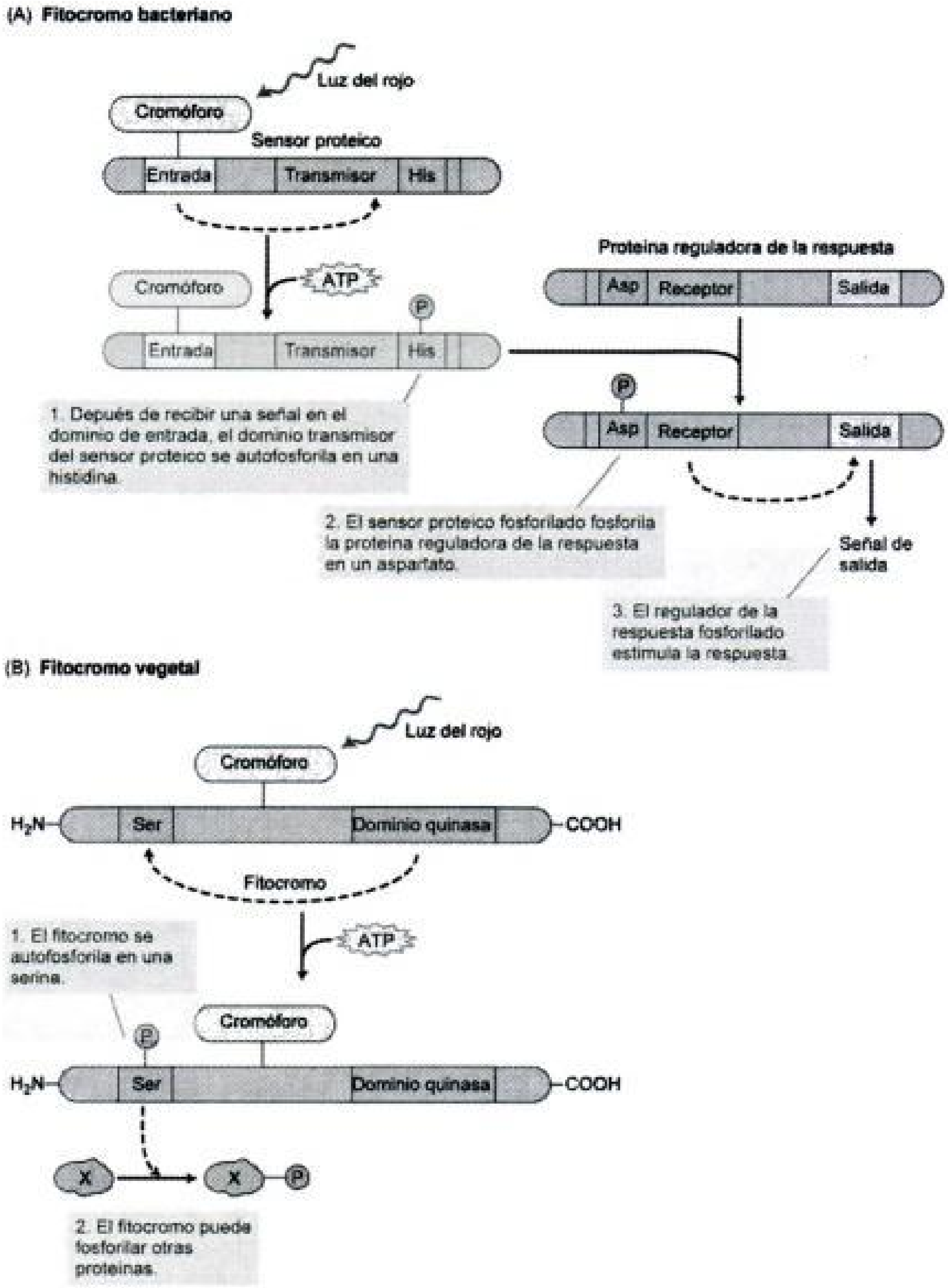
Los experimentos de microinyección (véase el **tema web 17.10**) indican que la señalización del fitocromo se puede producir en células individuales y no necesita luz tras la activación del fitocromo. Al menos una proteína G debe actuar después del fitocromo. Después de la etapa de las proteínas G, hay al menos dos rutas ramificadas. Una de estas rutas (la expresión génica y el desarrollo del cloroplasto) requiere Ca^{2+} y calmodulina; la otra (la síntesis de antocianinas) es independiente del Ca^{2+}.

Las rutas ramificadas se pueden distinguir asimismo por los elementos reguladores diana que actúan en *cis* y por los intermediarios de señalización empleados. Durante muchos años se ha sabido que el AMP cíclico (cAMP) y el GMP cíclico (cGMP) son intermediarios importantes en las rutas de señalización inducidas por hormonas y por la luz en animales (véase el capítulo 14 en la página web). Aunque la presencia de cAMP es difícil de demostrar en plantas, la presencia de cGMP sí que se ha establecido en tejidos vegetales. De hecho, estudios recientes han demostrado que el cGMP puede actuar como segundo mensajero en la acción del fitocromo.

Sin embargo, la participación de la proteína G en la cascada de señales en las plantas todavía es controvertida. Algunos genes clave (como la guanilato ciclasa) no se han identificado todavía en los genomas vegetales, y los niveles de cGMP en las plantas son muy pequeños. Por otra parte, los estudios con inhibidores han implicado al cGMP como un segundo mensajero de las giberelinas (véase el capítulo 20) y del ácido abscísico (véase el capítulo 23). Así, la función del cGMP en la señalización del fitocromo, aunque controvertida, todavía parece posible.

Fosforilación. La implicación de la fosforilación en la acción del fitocromo se ha comprobado a partir de la regulación de la fosforilación proteica por la luz del rojo y por la unión (dependiente de fosforilación) de factores de transcripción a los promotores de genes regulados por el fitocromo. Algunas preparaciones de fitocromo muy purificadas han reflejado también esta actividad quinasa.

Las **quinasas** son enzimas que tienen la capacidad de transferir grupos fosfato desde el ATP a aminoácidos como la serina o la tirosina, bien de ellas mismas, o bien a otras proteínas. Las quinasas son frecuentes en las rutas de transducción de señal en las que la adición o eliminación de grupos fosfato regula la actividad de un enzima.


(A) Fitocromo bacteriano
Luz del rojo
Cromóforo
Sensor proteico
Entrada
Transmisor
His
ATP
P
Proteína reguladora de la respuesta
Asp
Receptor
Salida
Señal de salida
(B) Fitocromo vegetal
H₂N
Ser
Dominio quinasa
COOH
Fitocromo
X

1. Depués de recibir una señal en el dominio de entrada, el dominio transmisor del sensor proteico se autofosforila en una histidina.

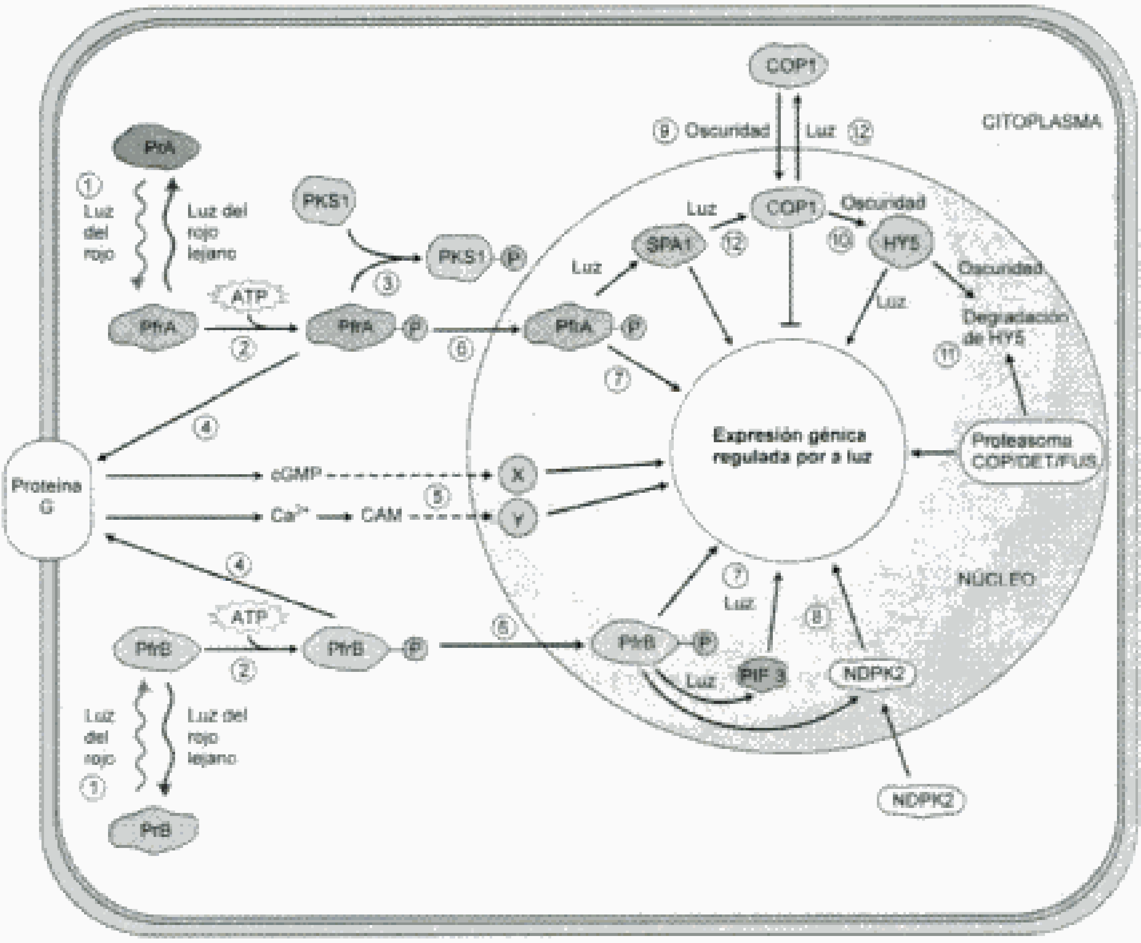
2. El sensor proteico fosforilado fosforila la proteína reguladora de la respuesta en un aspartato.

3. El regulador de la respuesta fosforilado estimula la respuesta.

1. El fitocromo se autofosforila en una serina.

2. El fitocromo puede fosforilar otras proteínas.

Figura 17.21 El fitocromo es una proteína quinasa autofosforilante. (A) El fitocromo bacteriano es un ejemplo de un sistema de señalización de dos componentes, en el que el fitocromo funciona como un sensor proteico que fosforila a un regulador de la respuesta (véase el capítulo 14 en la página web). (B) El fitocromo vegetal es una serina/treonina quinasa autofosforilante que también puede fosforilar a otras proteínas (X).


COP1
⑨ Oscuridad
Luz ⑫
CITOPLASMA
PrA
①
Luz del rojo
Luz del rojo lejano
PKS1
PKS1 P
③
ATP
PfrA
②
PfrA P
⑥
PfrA P
Luz
SPA1
⑫
Luz
COP1
Oscuridad
⑩
HY5
Oscuridad
Luz
Degradación de HY5
⑪
⑦
④
Proteína G
cGMP
Ca²⁺
CAM
⑤
X
Y
Expresión génica regulada por a luz
Proteasoma COP/DET/FUS
④
NÚCLEO
⑦
Luz
⑧
ATP
PfrB
②
PfrB P
⑥
PfrB P
Luz
PIF 3
NDPK2
NDPK2
Luz del rojo
Luz del rojo lejano
①
PrB

① La luz del rojo convierte PrA y PrB en sus formas Pfr.
② Las formas Pfr del fitocromo phyA y phyB pueden autofosforilarse.
③ PfrA activada fosforila el sustrato 1 de la fitocromo quinasa (PKS1).
④ PfrA y PfrB activados pueden interactuar con proteínas G.
⑤ cGMP, calmodulina (CAM) y calcio (Ca^{2+}) pueden activar factores de transcripción (X e Y).
⑥ PfrA y PfrB activados entran en el núcleo.
⑦ PfrA y PfrB puede regular la transcripción directamente o a través de la interacción con el factor 3 de interacción con el fitocromo (PIF3).
⑧ La nucleósido difosfato quinasa 2 (NDPK2) es activada por PfrB.
⑨ En la oscuridad, COP1 entra en el núcleo y reprime los genes regulados por la luz.
⑩ En la oscuridad, COP1, una ubiquitina ligasa E3 de HY5.
⑪ En la oscuridad, se degrada HY5 con la ayuda del complejo proteasoma COP/DET/FUS.
⑫ En presencia de luz, COP1 interacciona directamente con SPA1 y es exportado al citoplasma.

Figura 17.22 Diagrama que resumen los factores conocidos implicados en la expresión génica regulada por el fitocromo. Es probable que se descubran otras rutas adicionales, compartidas y específicas del fitocromo, a medida que se identifiquen más intermediarios de señalización. (Según Sharma 2001).

Hoy en día se sabe que el fitocromo es una proteína quinasa. El origen evolutivo del fitocromo es muy antiguo, anterior a la aparición de los eucariotas. Los fitocromos bacterianos son histidina quinasas dependientes de la luz que funcionan como **sensores proteicos** que fosforilan a las correspondientes **proteínas reguladoras de**

la respuesta (Figura 17.21A). (Véase también el capítulo 14 en la página web y el **tema web 17.11**).

No obstante, aunque los fitocromos de las plantas superiores tienen una cierta homología con los dominios quinasa, no funcionan como histidina quinasas. De hecho, son serinas/treoninas quinasa. Además, se ha demostrado que versiones recombinantes de fitocromos de plantas superiores y algas son quinasas moduladas por la luz y por el cromóforo, que se pueden fosforilar a sí mismas y a otras proteínas (Figura 17.21B) (Sharma 2001).

Una posible diana es la proteína citosólica llamada ***sustrato 1 de la fitocromo quinasa***, o **PKS1**, que puede aceptar un fosfato de phyA. La fosforilación se produce sobre las serinas, o con menos frecuencia sobre las treoninas. La fosforilación de PKS1 está regulada por el fitocromo tanto en el tubo de ensayo como en la planta, siendo la actividad de Pfr dos veces superior a la de Pr. La sobreexpresión de PKS1 en plantas transgénicas sugiere que puede funcionar regulando negativamente los efectos mediados por phyB (Fankhauser y col. 1999).

Otra proteína quinasa asociada con el fitocromo es la **nucleósido difosfato quinasa 2 (NPK2)**. Se ha encontrado que el fitocromo A interacciona con esta proteína, y duplica la actividad quinasa cuando phyA está unido en la forma Pfr. Como la proteína NPK2 se encuentra tanto en el núcleo como en el citosol, la localización del principal sitio de acción no está clara.

Un resumen de las posibles rutas de señalización y de regulación del fitocromo se encuentra en la figura 17.22.

La acción del fitocromo puede estar modulada por la acción de otros fotorreceptores

El reciente aislamiento de los genes que codifican los fotorreceptores del criptocromo y la fototropina (véase el capítulo 18), que median las respuestas reguladas por la luz del azul, ha hecho posible analizar si estos fotorreceptores tienen funciones solapadas (Chory y Wu 2001). Esta posibilidad se sospechó porque las mutaciones del gen criptocromo *CRY2* producían un retraso de la floración en condiciones de luz blanca, y el momento de la floración se sabía también que estaba bajo el control del fitocromo.

En *Arabidopsis*, los tratamientos con luz continua del azul o del rojo lejano conducen a la promoción de la floración y la luz del rojo inhibe la floración. La luz del rojo lejano actúa a través de phyA y el efecto antagónico de la luz del rojo se produce a través de la acción de phyB. Se esperaría que el mutante *cry2* tuviera retrasada la floración dado que la luz del azul promueve la floración. Sin embargo, los mutantes *cry2* florecen al mismo tiempo que las plantas silvestres en condiciones tanto de luz continua del azul como del rojo. El retraso en la floración se observa sólo si se dan juntas la luz del rojo y del azul. Por tanto, probablemente cry2 actúa promoviendo la floración con luz del azul por represión de la función de phyB.

Otros experimentos adicionales han confirmado que el otro criptocromo, cry1, también interactúa con los fitocromos. Tanto cry1 como cry2 interactúan con phyA *in vitro* y pueden ser fosforilados de forma dependiente de phyA. También se ha demostrado que la fosforilación de cry1 *in vivo* es dependiente de la luz del rojo. De hecho, la importancia de los criptocromos como reguladores del desarrollo se ha destacado desde su descubrimiento en sistemas animales, como el ratón y el hombre.

RESUMEN

El término *fotomorfogénesis* se refiere a los efectos determinantes que tiene la luz en el desarrollo vegetal y en el metabolismo celular. La luz del rojo ejerce la influencia más fuerte y con frecuencia los efectos de la luz del rojo son revertidos por la luz del rojo lejano.

El fitocromo es el pigmento implicado en la mayoría de los fenómenos fotomorfogénicos. El fitocromo existe en dos formas: una forma que absorbe la luz del rojo (Pr) y otra forma que absorbe la luz del rojo lejano (Pfr). El fitocromo se sintetiza en la oscuridad en la forma Pr. La absorción de luz del rojo por la forma Pr lo convierte en Pfr, y la absorción de luz del rojo lejano por Pfr lo convierte en Pr. Sin embargo, el espectro de absorción de las dos formas se solapa en la región del rojo del espectro, alcanzándose el equilibrio entre las dos formas que se llama estado fotoestacionario.

Se considera que Pfr es la forma activa que da lugar a la respuesta fisiológica; no obstante, Pr, en concreto Pr que ha pasado por Pfr, participa en las respuestas mediadas por phyA. Además de la luz, existen otros factores adicionales que regulan el nivel del estado estacionario de Pfr, incluyendo el nivel de expresión de la proteína y su estabilidad en la forma Pfr.

El fitocromo es una gran proteína dimérica formada por dos subunidades equivalentes. El monómero tiene una masa molecular de unos 125 kDa y está covalentemente unida a una cadena tetrapirrólica abierta llamada fitocromobilina.

El fitocromo está codificado por una gran familia de genes divergentes que dan lugar a dos tipos de proteínas: las de tipo I y las de tipo II. Las de tipo I, que están codificadas por el gen *PHYA*, son abundantes en los tejidos etiolados. No obstante, el fitocromo tipo I está presente a niveles muy bajos en las plantas que crecen en presencia de luz debido a la inestabilidad de la forma Pfr, la supresión de la transcripción de su propio gen mediada por phyA y la inestabilidad de su mRNA. El fitocromo tipo II (codificado por los genes *PHYB, PHYC, PHYD* y *PHYE*) está presente en niveles muy bajos tanto en las plantas que crecen con luz como las que crecen en oscuridad debido a que sus genes se expresan constitutivamente a niveles muy bajos y la proteína es estable en la forma Pfr.

Los estudios espectroscópicos e inmunológicos indican que los fitocromos se concentran en las regiones meristemáticas. PhyA y phyB se mueven hacia el núcleo tras su conversión a las formas Pfr.

Las respuestas del fitocromo se han clasificado como de muy baja fluencia, de baja fluencia y de alta irradiancia (VLFR, LFR y HIR, respectivamente). Estos tres tipos de respuestas se diferencian no sólo en los requerimientos de fluencia, sino también en los tiempos de escape, los espectros de acción y la fotorreversibilidad. El fitocromo B tiene una función importante en la detección de la sombra en las plantas adaptadas a altos niveles de luz del sol; el fitocromo A tiene una función más limitada, mediando la HIR del rojo lejano en el reverdecimiento temprano. Los fitocromos C, D y E tienen funciones específicas durante fases limitadas del desarrollo y estas funciones son parcialmente redundantes con las de phyA y phyB.

El fitocromo regula la transcripción de numerosos genes. Muchos de los genes implicados en el reverdecimiento, tales como los genes nucleares que codifican la subunidad pequeña de la rubisco y la proteína de unión a la clorofila *a/b* del complejo de captura de la luz, están regulados transcripcionalmente por el fitocromo (phyA y phyB).

El fitocromo también reprime la transcripción de ciertos genes, incluido *PHYA*. Se cree que la activación o represión de estos genes está mediada por factores de transcripción generales que se unen a elementos reguladores que actúan en *cis* en las regiones promotoras de estos genes de forma combinada. En algunos casos, el fitocromo en la forma Pfr interactúa directamente con estos factores. Estos factores de transcripción a su vez, están unidos a la acción del fitocromo por una serie de complejas rutas de transducción de señal que implican a las proteínas COP y DET, quinasas, GMP cíclico, proteínas G triméricas, Ca^{2+} y calmodulina.

El descubrimiento y caracterización del fitocromo bacteriano sugiere que el fitocromo de las gimnospermas ha evolucionado a partir de la histidina quinasa bacteriana que participa en rutas de señalización de dos componentes.

Además de los efectos a largo plazo que implican cambios en la expresión génica, el fitocromo induce una gran variedad de respuestas que incluyen la rotación del cloroplasto del alga *Mougeotia*, el cierre de las hojas durante la nictinastia y las alteraciones en el potencial de membrana. Estas respuestas implican rápidos cambios en las propiedades de la membrana. Actualmente se postula que estos efectos rápidos del fitocromo implican rutas de transducción de señal.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

17.1 Estructura de los fitocromos
Se describe la purificación y caracterización del fitocromo como un homodímero.

17.2 *Mougeotia*: un cloroplasto con giro
Se han utilizado los experimentos de irradiación con microfocos para localizar el fitocromo en esta alga filamentosa verde.

17.3 El fitocromo y las respuestas de alta irradiancia
Los experimentos con doble longitud de onda ayudaron a demostrar la función del fitocromo en las HIRs.

17.4 Las interacciones del fitocromo durante la germinación
Se describen las interacciones entre phyA y phyB durante la germinación.

17.5 Dominios funcionales del fitocromo
La sobreexpresión del fitocromo ha permitido caracterizar sus dominios funcionales.

17.6 Efectos del fitocromo sobre el flujo iónico
El fitocromo regula el flujo iónico a través de la membrana al alterar la actividad de los canales iónicos y de la bomba de protones de la membrana plasmática.

17.7 La regulación de la expresión génica por el fitocromo
Las evidencias muestran que el fitocromo regula la expresión génica a nivel de la transcripción.

17.8 La regulación de la transcripción por secuencias que actúan en *cis*
Se describen brevemente los elementos de respuesta del fitocromo.

17.9 Genes que suprimen la fotomorfogénesis
Se aporta más información sobre genes como *COP* y *DET* que regulan negativamente la fotomorfogénesis.

17.10 Funciones de las proteínas G y el calcio en las respuestas del fitocromo
Las evidencias sugieren que las proteínas G y el calcio participan en la acción del fitocromo.

17.11 Los orígenes del fitocromo como un receptor bacteriano de dos componentes

El descubrimiento del fitocromo bacteriano condujo a la identificación del fitocromo como una proteína quinasa.

ENSAYOS WEB

17.1 Debilitamiento por un destello de luz del sol

Cuando se colocan en un suelo adecuado, las semillas adquieren una extraordinaria sensibilidad a la luz, de manera que la germinación puede ser estimulada por una exposición a la luz del sol de menos de un segundo en los cultivos en suelo.

17.2 Conocer a tu vecino mediante el fitocromo

Las plantas pueden detectar la proximidad de sus vecinos por la percepción mediante el fitocromo de la proporción R:FR en la luz reflejada y provocar cambios morfológicos adaptativos antes de que le hagan sombra sus potenciales competidores.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Adam E., Szell M., Szekeres M., Schaefer E. y Nagy F. (1994) The developmental and tissue-specific expression of tobacco phytochrome-A genes. *Plant J.* 6: 283–293.

Alabadi D., Oyama T.,Yanovsky M. J., Harmon F. G., Mas P. y Kay S. A. (2001) Reciprocal regulation between *TOC1* and *LHY/CCA1* within the *Arabidopsis* circadian clock. *Science* 293; 880–883.

Andel F., Hasson K. C., Gai F., Anfinrud P. A. y Mathies R. A. (1997) Femtosecond time-resolved spectroscopy of the primary photochemistry of phytochrome. *Biospectroscopy* 3: 421–433.

Beggs C. J., Holmes M. G., Jabben M. y Schaefer E. (1980) Action spectra for the inhibition of hypocotyl growth by continuous irradiation in light- and dark-grown *Sinapis alba* L. seedlings. *Plant Physiol.* 66: 615–618.

Borthwick H. A., Hendricks S. B., Parker M. W., Toole E. H. y Toole V. K. (1952) A reversible photoreaction controlling seed germination. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 38: 662–666.

Briggs W. R., Mandoli D. F., Shinkle J. R., Kaufman L. S., Watson J. C. y Thompson W. F. (1984) Phytochrome regulation of plant development at the whole plant, physiological, and molecular levels. En *Sensory Perception and Transduction in Aneural Organisms*, G. Colombetti, F. Lenci y P.-S. Song, eds., Plenum, New York, págs. 265–280.

Butler W. L., Norris K. H., Siegelman H. W. y Hendricks S. B. (1959) Detection, assay, and preliminary purification of the pigment controlling photosensitive development of plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 45: 1703–1708.

Chory J. y Wu D. (2001) Weaving the complex web of signal transduction. *Plant Physiol.* 125: 77–80.

Fankhauser C., Yeh K.-C., Lagarias J. C., Zhang H., Elich T. D. y Chory J. (1999) PKS1, a substrate phosphorylated by phytochrome that modulates light signaling in *Arabidopsis*. *Science* 284: 1539–1541.

Flint L. H. (1936) The action of radiation of specific wave-lengths in relation to the germination of light-sensitive lettuce seed. *Proc. Int. Seed Test. Assoc.* 8: 1–4.

Furuya M. (1993) Phytochromes: Their molecular species, gene families and functions. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 617–645.

Galston A. (1994) *Life Processes of Plants*. Scientific American Library, New York.

Goosey L., Palecanda L. y Sharrock R. A. (1997) Differential patterns of expression of the *Arabidopsis PHYB*, *PHYD* and *PHYE* phytochrome genes. *Plant Physiol.* 115: 959–969.

Goto N., Yamamoto K. T. y Watanabe M. (1993) Action spectra for inhibition of hypocotyl growth of wild-type plants and of the *hy2* long-hypocotyl mutants of *Arabidopsis thaliana* L. *Photochem. Photobiol.* 57: 867–871.

Hartmann K. M. (1967) Ein Wirkungsspecktrum der Photomorphogenese unter Hochenergiebedingungen und seine Interpretation auf der Basis des Phytochroms (Hypokotylwachstumshem- mung bei *Lactuca sativa* L.). *Z. Naturforsch.* 22b: 1172–1175.

Hennig L., Stoddart W. M., Dieterle M., Whitelam G. C. y Schäfer E. (2002) Phytochrome E controls light-induced germination of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 128: 194–200.

Hoecker U. y Quail P. H. (2001) The phytochrome A-specific signaling intermediate SPA1 interacts directly with COP1, a constitutive repressor of light signaling in *Arabidopsis*. *J. Biol. Chem.* 276: 38173–38178.

Kendrick R. E. y Frankland B. (1983) *Phytochrome and Plant Growth*, 2ª ed. Edward Arnold, London.

Kim H. Y., Cote G. G. y Crain R. C. (1993) Potassium channels in *Samanea*-Saman protoplasts controlled by phytochrome and the biological clock. *Science* 260: 960–962.

Li L. y Lagarias J. C. (1992) Phytochrome assembly—Defining chromophore structural requirements for covalent attachment and photoreversibility. *J. Biol. Chem.* 267: 19204–19210.

Mandoli D. F. y Briggs W. R. (1984) Fiber optics in plants. *Sci. Am.* 251: 90–98.

Mathews S. y Sharrock R. A. (1997) Phytochrome gene diversity. *Plant Cell Environ.* 20: 666–671.

Millar A. J., Carre I. A., Strayer C. A., Chua N.-H. y Kay S. A. (1995) Circadian clock mutants in *Arabidopsis* identified by luciferase imaging. *Science* 267: 1161–1163.

Morgan D. C. y Smith H. (1978) Simulated sunflecks have large, rapid effects on plant stem extension. *Nature* 273: 534–536.

Morgan D. C. y Smith H. (1979) A systematic relationship between phytochrome-controlled development and species habitat, for plants grown in simulated natural irradiation. *Planta* 145: 253–258.

Nakasako M., Wada M., Tokutomi S., Yamamoto K. T., Sakai J., Kataoka M., Tokunaga F. y Furuya M. (1990) Quaternary structure of pea phytochrome I dimer studied with small angle X-ray scattering and rotary-shadowing electron microscopy. *Photochem. Photobiol.* 52: 3–12.

Parks B. M. y Spalding E. P. (1999) Sequential and coordinated action of phytochromes A and B during *Arabidopsis* stem growth revealed by kinetic analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 14142–14146.

Quail P. H., Boylan M. T., Parks B. M., Short T. W., Xu Y. y Wagner D. (1995) Phytochrome: Photosensory perception and signal transduction. *Science* 268: 675–680.

Quail P. H. (2000) Phytochrome-interacting factors. *Seminars in Cell & Devel. Biol.* 11: 457–466.

Sakamoto K. y Nagatani A. (1996) Nuclear localization activity of phytochrome B. *Plant J.* 10: 859–868.

Sharma R. (2001) Phytochrome: A serine kinase illuminates the nucleus! *Current Science* 80: 178–188.

Sharrock R. A. y Quail P. H. (1989) Novel phytochrome sequences in *Arabidopsis thaliana*: Structure, evolution, and differential expression of a plant regulatory photoreceptor family. *Genes Dev.* 3: 1745–1757.

Shinomura T., Nagatani A., Hanzawa H., Kubota M., Watanabe M. y Furuya M. (1996) Action spectra for phytochrome A- and B-specific photoinduction of seed germination in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 8129–8133.

Shropshire W., Jr., Klein W. H. y Elstad V. B. (1961) Action spectra of photomorphogenic induction and photoinactivation of germination in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 2: 63–69.

Smith H. (1974) *Phytochrome and Photomorphogenesis: An Introduction to the Photocontrol of Plant Development*. McGraw-Hill, London.

Smith H. (1982) Light quality photoperception and plant strategy. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 33: 481–518.

Smith H. y Whitelam G. C. (1997) The shade avoidance syndrome: Multiple responses mediated by multiple phytochromes. *Plant Cell Environ.* 20: 840–844.

Somers D. E. y Quail P. H. (1995) Temporal and spatial expression patterns of *PHY*A and *PHY*B genes in *Arabidopsis*. *Plant J.* 7: 413–427.

Sugano S., Andronis C., Ong M. S., Green R. M. y Tobin E. M. (1999) The protein kinase CK2 is involved in regulation of circadian rhythms in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 12362–12366.

Strayer C., Oyama T., Schultz T. F., Raman R., Somer D. E., Mas P., Panda S., Kreps J. A. y Kay S. A. (2001) Cloning of the *Arabidopsis* clock gene *TOC1*, an autoregulatory response regulator homolog. *Science* 289: 768–771.

Tepperman J. M., Zhu T., Chang H. S., Wang X. y Quail P. H. (2001) Multiple transcription factor genes are early targets of phytochrome A signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 9437–9442.

Thümmler F., Dufner M., Kreisl P. y Dittrich P. (1992) Molecular cloning of a novel phytochrome gene of the moss *Ceratodon purpureus* which encodes a putative light-regulated protein kinase. *Plant Mol. Biol.* 20: 1003–1017.

Tokutomi S., Nakasako M., Sakai J., Kataoka M., Yamamoto K. T., Wada M., Tokunaga F. y Furuya M. (1989) A model for the dimeric molecular structure of phytochrome based on small angle x-ray scattering. *FEBS Lett.* 247: 139–142.

Toyomasu T., Kawaide H., Mitsuhashi W., Inoue Y. y Kamiya Y. (1998) Phytochrome regulates gibberellin biosynthesis during germination of photoblastic lettuce seeds. *Plant Physiol.* 118: 1517–1523.

Vierstra R. D. (1994) Phytochrome degradation. En *Photomorphogenesis in Plants*, 2ª ed., R. E. Kendrick y G. H. M. Kronenberg, eds., Martinus Nijhoff, Dordrecht, Netherlands, págs. 141–162.

Vierstra R. D. y Quail P. H. (1983) Purification and initial characterization of 124-kilodalton phytochrome from *Avena*. *Biochemistry* 22: 2498–2505.

Wang Z.-Y., Kenigsbuch D., Sun L., Harel E., Ong., M. S. y Tobin E. M. (1997) A MYB-related transcription factor is involved in the phytochrome regulation of an *Arabidopsis Lhcb* gene. *Plant Cell* 9: 491–507.

Yamaguchi R., Nakamura M., Mochizuki N., Kay S. A. y Nagatani A. (1999) Light-dependent translocation of a phytochrome B-GFP fusion protein to the nucleus in transgenic *Arabidopsis*. *J. Cell Biol.* 145: 437–445.

Capítulo 18

LAS RESPUESTAS A LA LUZ DEL AZUL: MOVIMIENTOS ESTOMÁTICOS Y MORFOGÉNESIS

LA MAYORÍA DE NOSOTROS hemos podido observar como las ramas de plantas de interior colocadas cerca de una ventana tienden a crecer hacia donde entra la luz. Esta respuesta, llamada *fototropismo*, es un ejemplo de cómo las plantas alteran sus patrones de crecimiento en respuesta a la dirección de la radiación incidente. Esta respuesta a la luz es intrínsecamente diferente de la captación de la luz en la fotosíntesis. En la fotosíntesis, las plantas capturan la luz y la convierten en energía química (véanse los capítulos 7 y 8). Por el contrario, el fototropismo es un ejemplo del uso de la luz como una *señal del entorno*. Hay dos tipos principales de respuestas de las plantas a la luz del entorno: las respuestas del fitocromo, que se desarrollaron en el capítulo 17 y las **respuestas a la luz del azul**.

Algunas de las respuestas a la luz del azul fueron introducidas en el capítulo 9 (por ejemplo, el movimiento de los cloroplastos en respuesta a flujos fotónicos incidentes y el seguimiento del sol por las hojas). Al igual que en el conjunto de las respuestas del fitocromo, hay numerosas respuestas de las plantas a la luz del azul. Además del fototropismo, éstas respuestas incluyen la inhibición de la elongación del hipocotilo, la estimulación de la síntesis de clorofila y carotenoides, la activación de la expresión génica, los movimientos estomáticos, la fototaxis (el movimiento de los organismos unicelulares con motilidad, como algas y bacterias, hacia la luz o lejos de ella), la estimulación de la respiración y la incorporación de aniones en algas (Senger 1984). Estas respuestas a la luz del azul se han descrito en plantas superiores, algas, helechos, hongos y procariotas.

Algunas respuestas, al igual que los procesos eléctricos en la membrana plasmática, pueden ser detectadas en pocos segundos tras la irradiación con luz del azul. Otras respuestas metabólicas o morfogénicas más complejas, como la biosíntesis de pigmentos estimulada por la luz del azul en el hongo *Neurospora* o la ramificación del alga *Vaucheria*, pueden requerir minutos, horas o incluso días (Horwitz 1994).

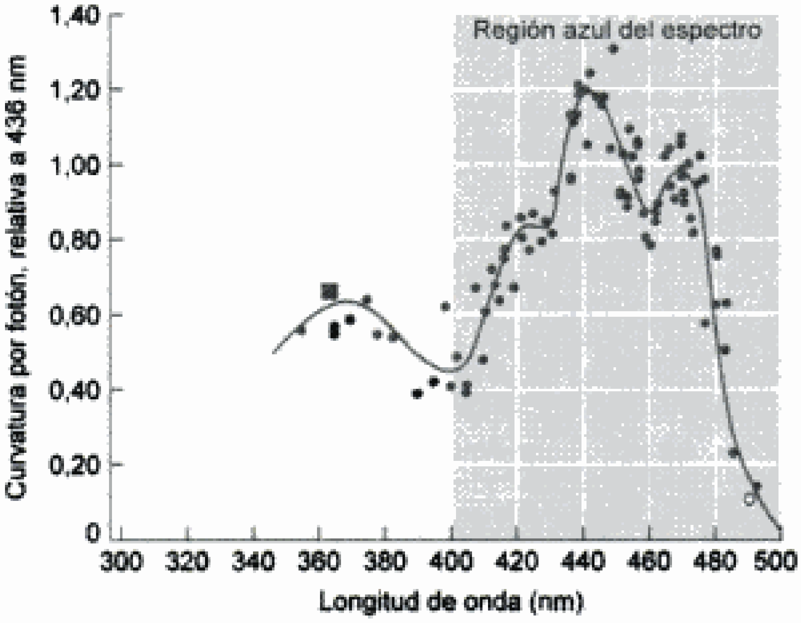


Figura 18.1 Espectro de acción del fototropismo estimulado por la luz del azul en coleóptilos de avena. Un espectro de acción muestra la relación entre una respuesta biológica y las longitudes de onda absorbidas. El patrón de «tres dedos» en la región de 400-500 nm es característico de las respuestas específicas a la luz del azul. (Según Thimann y Curry 1960).

Los lectores podrían llegar a desconcertarse ante las diferentes denominaciones de las respuestas del fitocromo y de la luz del azul. Las primeras vienen identificadas por un fotorreceptor específico (el fitocromo) y las últimas por la región azul del espectro visible. En el caso del fitocromo, algunas de sus propiedades espectroscópicas y bioquímicas, concretamente la reversibilidad rojo/rojo lejano, hicieron posible su identificación, de forma que cientos de respuestas fotobiológicas de las plantas pueden ser claramente atribuidas a los fotorreceptores del fitocromo (véase el capítulo 17).

Por el contrario, la espectroscopia de las respuestas a la luz del azul es compleja. Tanto las clorofilas como el fitocromo absorben luz del azul (400-500 nm) en la región visible del espectro y existen otros cromóforos y aminoácidos como el triptófano absorben luz en la región del ultravioleta (250-400 nm). ¿Cómo se pueden entonces distinguir las respuestas específicas a la luz del azul? Un criterio importante para identificar las respuestas específicas a la luz del azul, es que la luz del azul no puede ser sustituida por un tratamiento con luz del rojo, y no hay reversibilidad rojo/rojo lejano. La luz del rojo/rojo lejano sería efectiva si la fotosíntesis o el fitocromo estuvieran implicados.

Otra diferencia clave es que muchas de *las respuestas a la luz del azul de las plantas superiores comparten un espectro de acción característico*. Recordemos del capítulo 7 que un espectro de acción es una gráfica donde la magnitud de la respuesta observada a la luz es función de la longitud de onda (véase el **tema web 7.1** para un análisis detallado de la espectroscopia y los espectros de acción). El espectro de acción de la respuesta puede ser comparado con los *espectros de absorción* de los fotorreceptores candidatos. La estrecha correspondencia entre los espectros de acción y absorción aporta evidencias de que el pigmento considerado es el fotorreceptor que media la respuesta a la luz estudiada (véase la figura 7.8).

El espectro de acción para el fototropismo estimulado por la luz del azul, los movimientos estomáticos, la inhibición de la elongación del hipocotilo y otras respuestas claves a la luz del azul comparten una estructura característica de «tres dedos» en la región de los 400-500 nm (Figura 18.1) que no se observa en los espectros de las respuestas a la luz que están mediadas por la fotosíntesis, el fitocromo u otros fotorreceptores (Cosgrove 1994).

En este capítulo describiremos las respuestas a la luz del azul más representativas en las plantas: fototropismos, inhibición de la elongación del tallo y movimientos estomáticos. Las respuestas estomáticas a la luz del azul se analizan con detalle debido a la importancia de los estomas en el intercambio gaseoso de la hoja (véase el capítulo 9) y en las aclimataciones y adaptaciones de las plantas a su entorno. También analizaremos los fotorreceptores de la luz del azul y la cascada de transducción de señal que relaciona la percepción de la luz del azul con la expresión final de esta percepción en el organismo.

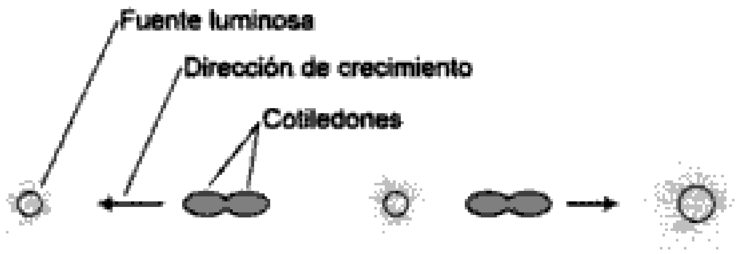
LA FOTOFISIOLOGÍA DE LAS RESPUESTAS A LA LUZ DEL AZUL

Las señales de la luz del azul son empleadas por la planta en numerosas respuestas, permitiendo a la planta detectar la presencia de la luz y su dirección. Esta sección describe los principales cambios morfológicos, fisiológicos y bioquímicos asociados con las respuestas típicas a la luz del azul.

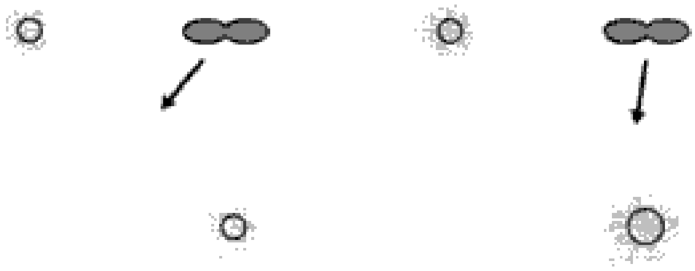
La luz del azul estimula el crecimiento asimétrico y la curvatura

El crecimiento direccional hacia la luz (o en circunstancias especiales en sentido opuesto), se denomina **fototropismo**. Se puede observar en hongos, helechos y plantas superiores. El fototropismo es una respuesta **fotomorfogénica** particularmente evidente en plántulas de monocotiledóneas y dicotiledóneas que han crecido en oscuridad. La luz unilateral es utilizada comúnmente en estudios experimentales, aunque el fototropismo se puede observar también cuando las plántulas se exponen a dos fuentes de luz brillante de intensidad diferente (Figura 18.2), una condición que puede darse en la naturaleza.

A medida que crece a través del suelo, el vástago de una herbácea está protegido por una hoja modificada que lo recubre, denominada **coleóptilo** (Figura 18.3; véase



Iluminación unilateral **Iluminación bilateral desigual**



Dos fuentes de luz laterales iguales **Dos fuentes de luz laterales desiguales**

Figura 18.2 Relación entre la dirección de crecimiento y la luz incidente de intensidad desigual. Se muestran los cotiledones de una plántula joven vistos desde arriba. Las flechas indican la dirección de la curvatura fototrópica. Los diagramas ilustran cómo varía la dirección de crecimiento con la localización e intensidad de la fuente de luz, aunque el crecimiento es siempre hacia la luz. (Según Firn 1994).

también la figura 19.1). Como se analizará con detalle en el capítulo 19, los cambios en la posición de la fuente de luz provocan cambios en las concentraciones de auxina en las zonas iluminadas y en sombra del coleóptilo, un crecimiento desigual y cambios en la curvatura del mismo.

No debe olvidarse que la curvatura fototrópica se produce sólo en los órganos *en crecimiento*, y que los coleóptilos y los tallos que han cesado su elongación no se curvarán cuando sean expuestos a una luz unilateral. En las plántulas de herbáceas que crecen en el suelo recibiendo directamente la luz del sol, los coleóptilos cesan su crecimiento en el momento que el vástago emerge del suelo y la primera hoja verdadera ha atravesado el extremo del coleóptilo.

Por otro lado, los coleóptilos *etiolados*, que han crecido en oscuridad, mantienen tasas altas de elongación durante bastantes días y, dependiendo de la especie, pueden alcanzar varios centímetros de longitud. La gran respuesta fototrópica de estos coleóptilos etiolados (véase la figura 18.3) los ha convertido en un modelo clásico en el estudio del fototropismo (Firn 1994).

El espectro de acción de la figura 18.1 se obtuvo al medir los ángulos de curvatura de los coleóptilos de avena al ser irradiados con luz de diferentes longitudes de

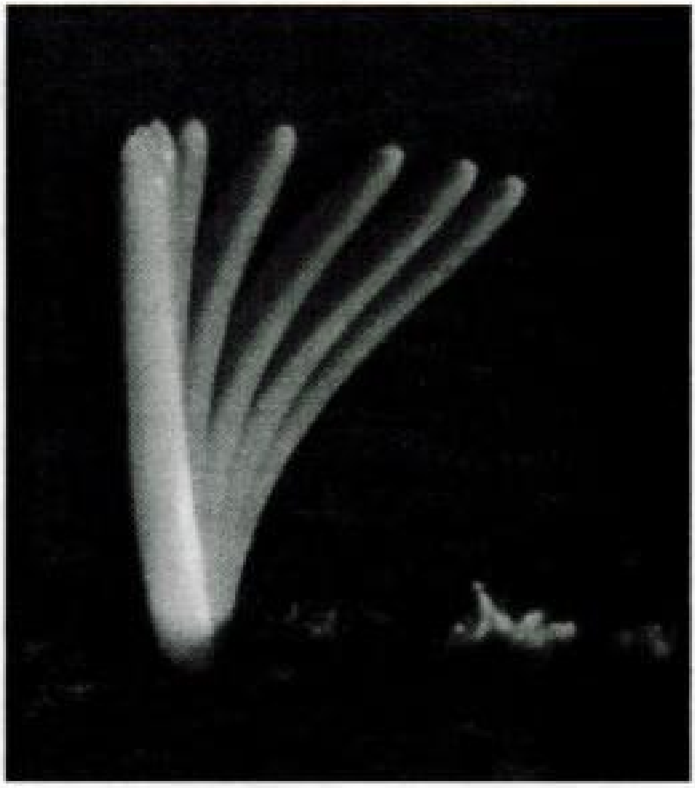


Figura 18.3 Fotografía de intervalos de tiempo de un coleóptilo de maíz creciendo hacia una fuente de luz del azul procedente de la derecha. Las exposiciones consecutivas se hicieron cada 30 minutos. Obsérvese el aumento del ángulo de curvatura del coleóptilo a medida que se elonga. (Cortesía de M. A. Quiñones).

onda. El espectro muestra un pico sobre 370 nm y el patrón de «tres dedos» en la región de 400-500 nm descrito anteriormente. El espectro de acción para el fototropismo de la dicotiledónea alfalfa (*Medicago sativa*) es muy similar al de los coleóptilos de avena, sugiriendo que un fotorreceptor común es responsable del fototropismo en ambas especies.

Se ha estudiado el fototropismo en los esporangióforos del moho *Phycomyces* para identificar los genes implicados en las respuestas fototrópicas. El esporangióforo consta de un esporangio (estructura esférica que contiene la espora) que se desarrolla sobre un suspensor que consta de una única célula alargada. El crecimiento del esporangióforo está restringido a la zona de crecimiento justo debajo del esporangio.

Cuando se irradia con luz unilateral del azul, el esporangióforo se curva hacia la luz con un espectro de acción similar al del fototropismo del coleóptilo (Cerda-Olmedo y Lipson 1987). Estos estudios en *Phycomyces* han permitido aislar numerosos mutantes con una respuesta fototrópica alterada y la identificación de varios genes necesarios para una respuesta fototrópica normal.

En los últimos años, el fototropismo del tallo de la pequeña dicotiledónea *Arabidopsis* (Figura 18.4) ha centrado las investigaciones debido a la facilidad con

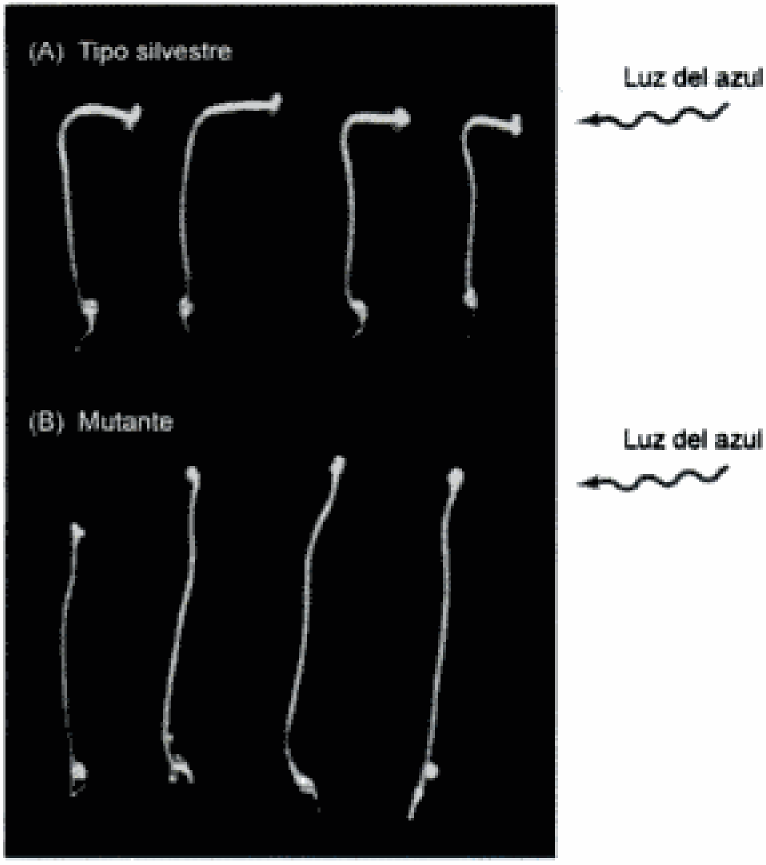


Figura 18.4 Fototropismo en plántulas tipo silvestre (A) y mutante (B) de *Arabidopsis*. Se aplicó luz unilateral desde la derecha. (Cortesía de la Dra. Eva Huala).

la que se pueden aplicar las técnicas moleculares avanzadas a sus mutantes. La biología molecular y la genética del fototropismo de *Arabidopsis* se analizarán más adelante en este capítulo.

¿Cómo detectan las plantas la dirección de la señal luminosa?

Se han medido los *gradientes de luz* entre los lados iluminados y los sombreados en coleóptilos e hipocotilos de plántulas de dicotiledóneas irradiadas con luz unilateral azul. Cuando un coleóptilo se ilumina con luz del azul de 450 nm, la relación entre la luz que incide en la superficie del lado iluminado y la luz que alcanza el lado a la sombra es 4:1 en el ápice y en la región media del coleóptilo y de 8:1 en la base (Figura 18.5).

Por otro lado, se ha observado un *efecto lente* en el esporangióforo del moho *Phycomyces* irradiado con luz del azul unilateral y, en consecuencia, la luz medida en la superficie celular distal del esporangióforo es el doble de la cantidad de luz que incide en el lado iluminado. Los gradientes de luz y el efecto lente podrían estar im-

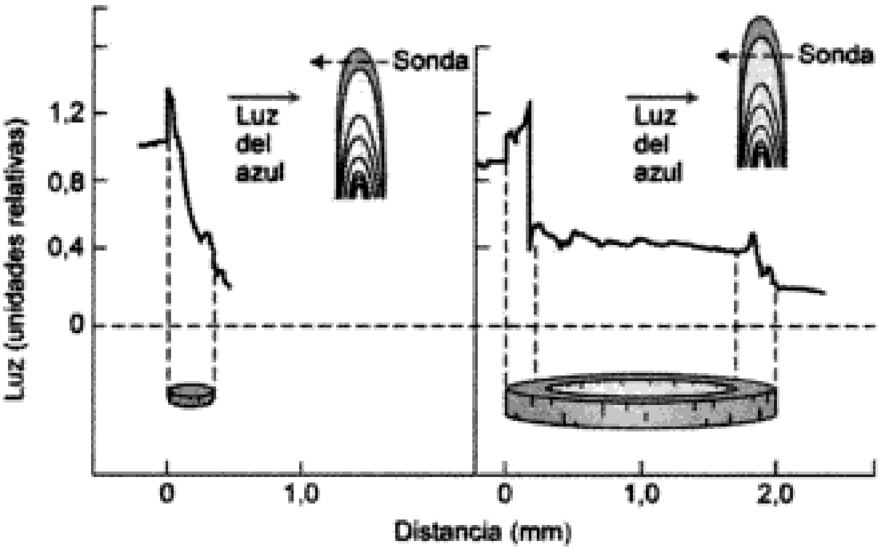


Figura 18.5 Distribución de luz del azul de 450 nm transmitida en un coleóptilo etiolado de maíz. El diagrama de la parte superior derecha de cada gráfico muestra el área del coleóptilo que se mide con una sonda de fibra óptica. Una sección transversal del tejido aparece en la parte inferior de cada gráfico. La línea sobre ella muestra la cantidad de luz que percibe la sonda en cada punto. Un mecanismo de percepción que dependiera de los gradientes de luz detectaría la diferencia en la cantidad de luz entre los lados iluminado y sombreado del coleóptilo, y esta información sería transducida como una concentración desigual de auxina y en la curvatura. (Según Vogelmann y Haupt 1985).

plicados en el mecanismo de detección la dirección de la luz unilateral en los órganos que se curvan (Vogelmann 1994).

La luz del azul inhibe rápidamente la elongación del tallo

Los tallos de las plántulas que crecen en oscuridad se alargan muy rápidamente, y la inhibición de la elongación del tallo por la luz es una respuesta morfogénica clave en plántulas que emergen desde la superficie del suelo (véase el capítulo 17). La conversión de Pr en Pfr (las formas de absorción del rojo y del rojo lejano del fitocromo, respectivamente) en plántulas etioladas provoca un descenso brusco de la tasa de elongación, dependiente del fitocromo (véase la figura 17.1).

Sin embargo, los espectros de acción para la disminución en la tasa de elongación muestran una fuerte actividad en la región del azul, que no puede ser explicada por las propiedades de absorción del fitocromo (véase la figura 17.9). De hecho, el espectro de acción en la región del azul entre 400 y 500 nm para la inhibición de la elongación del tallo es muy parecida a la del fototropismo (compárense los espectros de acción de las figuras 17.10 y 18.1).

Existen varias formas de separar experimentalmente la reducción en la tasa de elongación del tallo mediada por el fitocromo, de la mediada por una respuesta es-

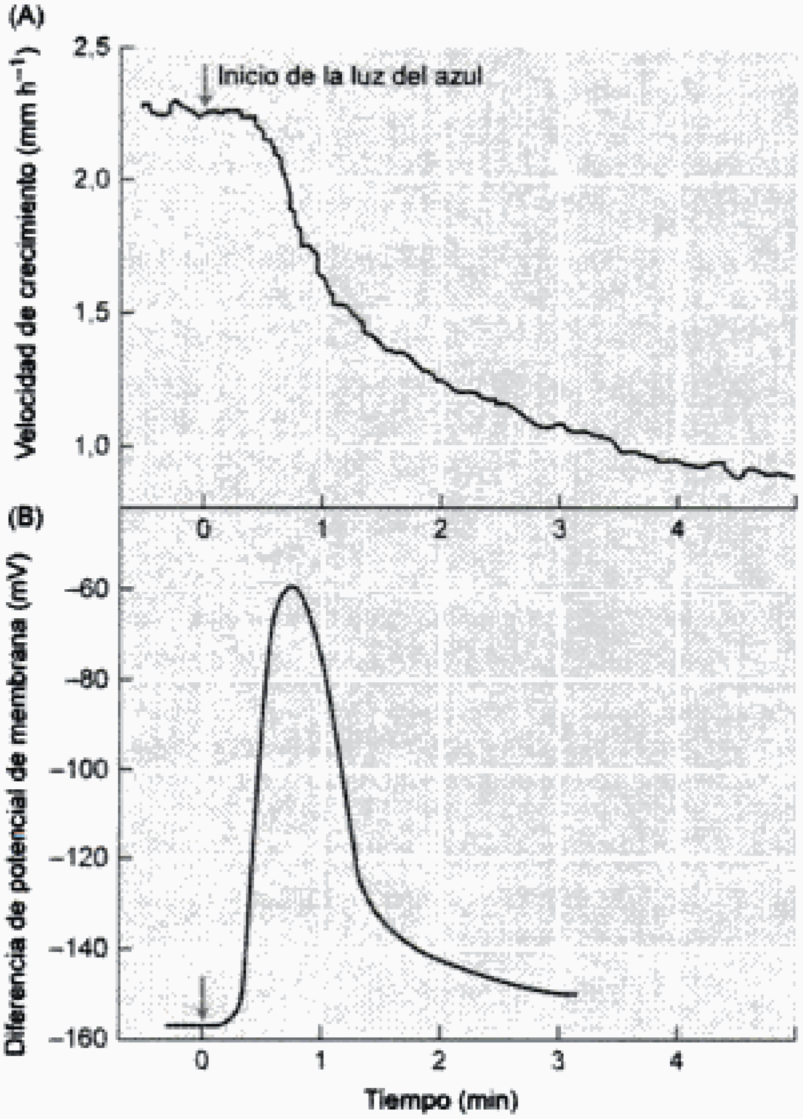


Figura 18.6 Cambios inducidos por la luz del azul (A) en la tasa de elongación de plántulas etioladas de pepino y (B) la despolarización transitoria de la membrana de células de hipocotilo. A medida que la despolarización de la membrana (medida con electrodos intracelulares) alcanza su máximo, la tasa de elongación (medida con transductores de posición) disminuye drásticamente. La comparación entre las dos curvas muestra que la membrana comienza a despolarizarse antes de que la velocidad de crecimiento empiece a reducirse, sugiriendo una relación causa-efecto entre los dos fenómenos. (Según Spalding y Cosgrove 1989).

pecífica a la luz del azul. Si se aplica luz del azul de baja fluencia con un fondo fuerte de luz amarilla a plántulas de lechuga, la tasa de elongación del hipocotilo se reduce en más de un 50%. La luz de fondo amarilla establece una relación Pr:Pfr bien definida (véase el capítulo 17). En estas condiciones, la baja fluencia de la luz del azul añadida es insuficiente para cambiar significativamente esta relación, descartando un efecto del fitocromo en la reducción de la tasa de elongación observada bajo la adición de luz del azul.

Las respuestas del hipocotilo a la luz del azul y las mediadas por el fitocromo también se pueden distinguir por la rapidez de la respuesta. Mientras los cambios en las tasas de elongación mediadas por el fitocromo se pueden detectar tras un intervalo de 8 a 90 minutos, dependiendo de las especies, las respuestas a la luz del azul son rápidas, y pueden ser medidas después de 15 a 30 s (Figura 18.6). Las interacciones entre las cascadas de transducción de señal dependientes del fitocromo y de la luz del azul implicadas en la regulación de la tasa de elongación serán descritas más adelante en este capítulo.

Otra respuesta rápida mediada por la luz del azul es la despolarización de la membrana de las células del hipocotilo que precede a la inhibición de la tasa de crecimiento (véase la figura 18.6). La despolarización de la membrana está provocada por la activación de canales iónicos (véase el capítulo 6), facilitando la salida de aniones como el cloruro. El uso de un compuesto que bloquea los canales aniónicos evita la despolarización de la membrana dependiente de la luz del azul y reduce el efecto inhibidor de la luz del azul en la elongación del hipocotilo (Parks y col. 1998).

La luz del azul regula la expresión génica

La luz del azul también regula la expresión de genes implicados en varios procesos morfogénicos importantes. Algunos de estos genes activados por la luz se han estudiado con detalle, por ejemplo, los que codifican el enzima chalcona sintasa (que cataliza la primera etapa de la biosíntesis de flavonoides), la subunidad pequeña de la rubisco y las proteínas que se unen a las clorofilas *a* y *b* (véanse los capítulos 12, 8 y 7, respectivamente). La mayoría de los estudios sobre los genes activados por la luz muestran sensibilidad tanto a la luz del azul y del rojo, como reversibilidad rojo/rojo lejano, implicando respuestas al fitocromo y específicas de la luz del azul.

Un estudio reciente ha descrito que *SIG5*, uno de los seis genes nucleares *SIG* de *Arabidopsis* con función reguladora en la transcripción del gen *psbD* del cloroplasto (que codifica la subunidad D2 del centro de reacción PSII) (véase el capítulo 7), es activado específicamente por la luz del azul (Tsunoyama y col. 2002). Por el contrario, los otros cinco genes *SIG* se activan tanto por la luz del azul como por la del rojo.

Otro ejemplo bien estudiado sobre expresión génica mediada por un sistema sensible únicamente a la luz del azul implica al gen *GSA* en el alga fotosintética unicelular *Chlamydomonas reinhardtii* (Matters y Beale 1995). Este gen codifica la glutamato-1-semialdehído aminotransferasa (GSA), un enzima clave en la ruta biosintética de la clorofila (véase el capítulo 7). La ausencia del fitocromo en *C. reinhardtii* simplifica el análisis de las respuestas a la luz del azul en este sistema experimental.

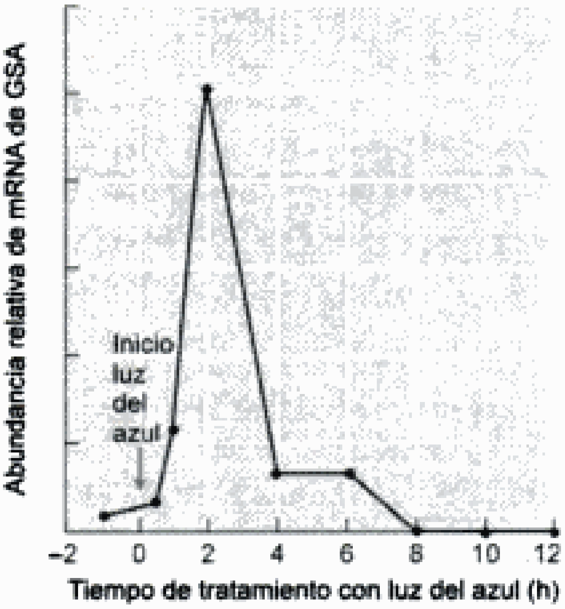


Figura 18.7 Evolución temporal de la expresión de un gen dependiente de la luz del azul en *Chlamydomonas reinhardtii*. El gen *GSA* codifica el enzima glutamato-1-semialdehído aminotransferasa, que regula las primeras etapas de la biosíntesis de la clorofila. (Según Matters y Beale 1995).

En cultivos sincronizados de *C. reinhardtii*, los niveles de mRNA de la *GSA* están estrictamente regulados por la luz del azul, y dos horas después de iniciarse la iluminación, los niveles de mRNA de *GSA* son 26 veces más altos que los presentes en oscuridad (Figura 18.7). Este aumento de mRNA mediado por la luz precede al aumento en el contenido de clorofila, indicando que la biosíntesis de clorofilas está siendo regulada por la activación de los genes *GSA*.

La luz del azul estimula la apertura estomática

Centraremos nuestro análisis en las respuestas estomáticas a la luz del azul. Los estomas tienen un papel regulador principal en el intercambio gaseoso en las hojas (véase el capítulo 9), y pueden afectar a la producción en cultivos agrícolas (véase el capítulo 25). Varias características de los movimientos estomáticos dependientes de la luz del azul hacen de las células guarda un sistema experimental muy valioso para el estudio de las respuestas a la luz del azul:

- La respuesta estomática a la luz del azul es rápida y reversible, y está localizada en un único tipo celular, la célula guarda.
- La respuesta estomática a la luz del azul regula los movimientos estomáticos durante toda la vida de la planta. Este hecho lo diferencia del fototropismo o la elongación del hipocotilo, que son funcionalmente importantes en las primeras etapas del desarrollo.

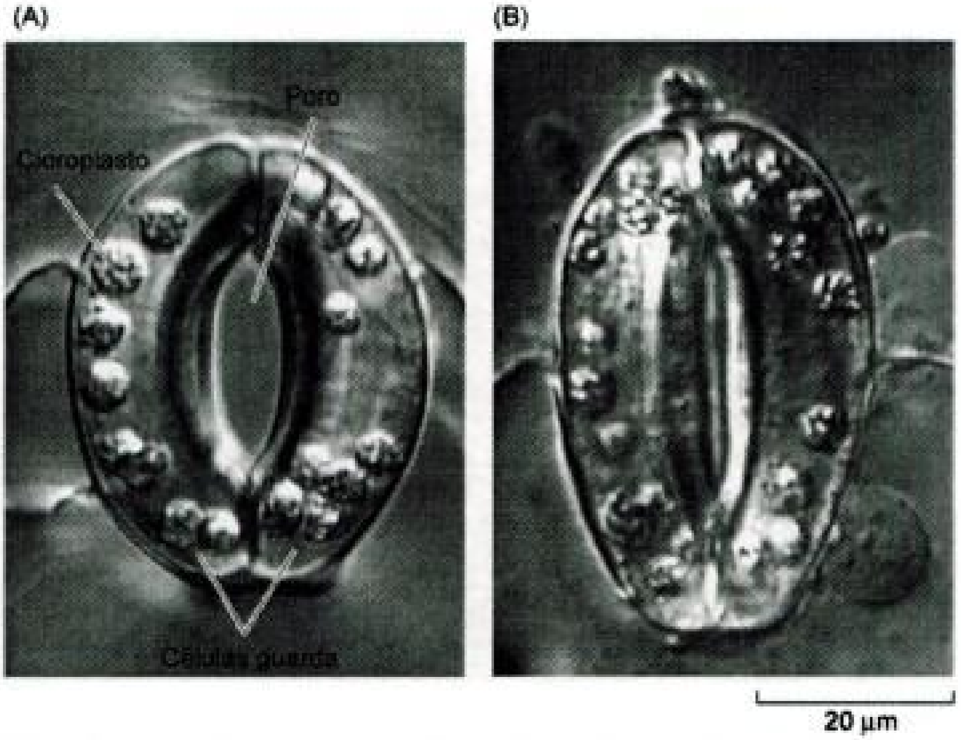


Figura 18.8 Apertura estomática estimulada por la luz en epidermis aislada de *Vicia faba*. El estoma abierto, irradiado con luz (A), se muestra en el estado cerrado en el tratamiento en oscuridad (B). Las aperturas estomáticas se cuantifican por medidas microscópicas de la anchura del poro estomático. (Cortesía de E. Raveh).

- La cascada de transducción de señal que une la percepción de la luz del azul con la apertura estomática se conoce con bastante detalle.

En las siguientes secciones analizaremos dos aspectos centrales de la respuesta estomática a la luz, los mecanismos osmorreguladores que dirigen los movimientos estomáticos y la función de la H^+-ATPasa activada por la luz del azul en la incorporación de iones por las células guarda.

La luz es la señal ambiental dominante en el control de los movimientos estomáticos en las hojas de plantas bien regadas que crecen en ambientes naturales. Los estomas se abren a medida que los niveles de luz que alcanzan la superficie foliar van aumentando, y se cierran a medida que disminuyen (Figura 18.8). En hojas de haba (*Vicia faba*) que han crecido en invernadero, los movimientos estomáticos responden fielmente a la radiación solar incidente en la superficie de la hoja (Figura 18.9).

Los primeros estudios de la respuesta estomática a la luz mostraron que el DCMU (diclorofenildimetilurea), un inhibidor del transporte electrónico fotosintético (véase la figura 7.31), provoca una inhibición parcial de la apertura estomática estimulada por la luz. Estos resultados indicaron que la fotosíntesis en los cloroplastos de las células guarda participa en la apertura estomática dependiente de la luz, pero el hecho

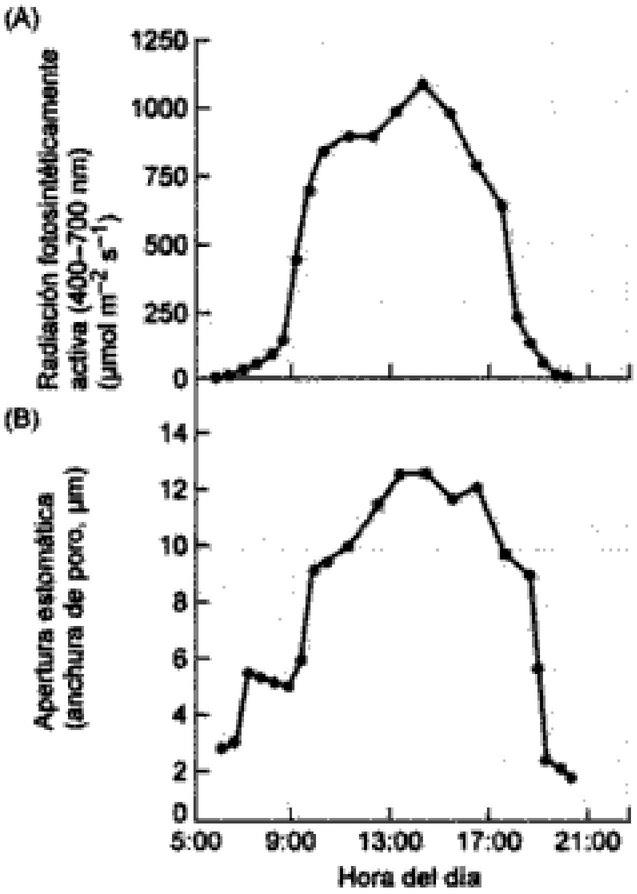


Figura 18.9 Apertura estomática en respuesta a la radiación fotosintéticamente activa en la superficie de la hoja. La apertura estomática en el envés de hojas de *Vicia faba* que han crecido en un invernadero, medida como anchura del poro estomático (A), sigue fielmente los niveles de la radiación fotosintéticamente activa (400-700 nm) incidente sobre la hoja (B), indicando que la respuesta a la luz es la respuesta dominante que regula la apertura estomática. (Según Srivastava y Zeiger 1995a).

de que esta inhibición sea sólo parcial indica la existencia de un componente no fotosintético de la respuesta estomática a la luz. Estudios más detallados sobre la respuesta de los estomas a la luz han mostrado que la luz activa dos respuestas distintas de las células guarda: la fotosíntesis en los cloroplastos (véase el **ensayo web 18.1**) y una respuesta específica a la luz del azul.

La respuesta específica a la luz del azul no puede ser resuelta adecuadamente en condiciones de iluminación con luz del azul, ya que la luz del azul estimula simultáneamente la respuesta específica a la luz del azul y la fotosíntesis en las células guarda (para la respuesta fotosintética a la luz del azul, véase el espectro de acción de la fotosíntesis en la figura 7.8). Se puede obtener una clara separación de las dos respuestas a la luz mediante experimentos de doble irradiación. Se *satura* la respuesta fotosintética con luz del rojo de alta fluencia, y se añade luz del azul de baja fluencia fotónica tras haber completado la respuesta a la saturación por la luz del rojo (Figura 18.10). La adición de luz del azul provoca un aumento adicional de la apertura esto-

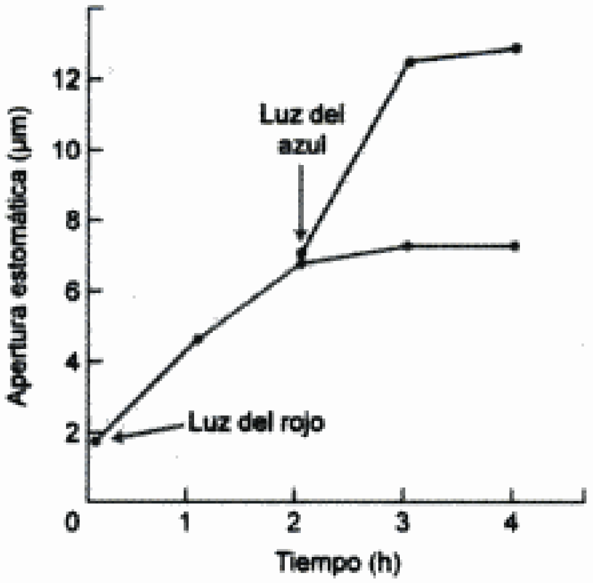


Figura 18.10 Respuesta de los estomas a la luz del azul bajo fondo de luz del rojo. Los estomas de epidermis aislada de *Commelina communis* se trataron con flujos fotónicos saturantes de luz del rojo (línea roja). En un experimento paralelo, los estomas iluminados con luz del rojo se expusieron también a luz del azul, como indica la flecha (línea azul). El aumento en la apertura estomática sobre el nivel alcanzado en presencia de luz del rojo saturante indica que un sistema fotorreceptor diferente, estimulado por la luz del azul, está mediando en los aumentos adicionales de la apertura. (Según Schwartz y Zeiger 1984).

mática que no puede ser explicado por una estimulación posterior de la fotosíntesis en las células guarda, ya que la fotosíntesis está ya saturada por el fondo de luz del rojo.

Un espectro de acción para la respuesta estomática a la luz del azul bajo un fondo de luz del rojo muestra el patrón de tres dedos descrito anteriormente (Figura 18.11). Este espectro de acción, típico de las respuestas a la luz del azul y claramente dife-

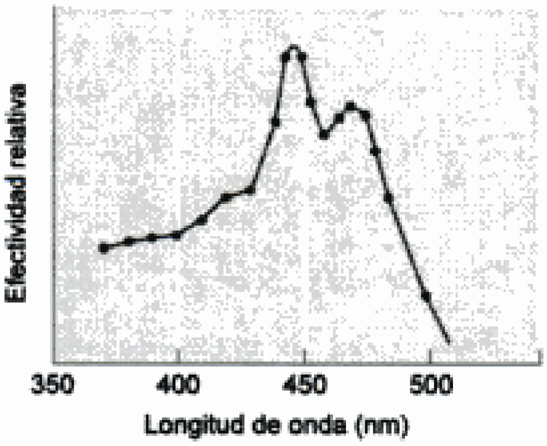


Figura 18.11 Espectro de acción de la apertura estomática estimulada por la luz del azul (bajo fondo de luz del rojo). (Según Karlsson 1986).

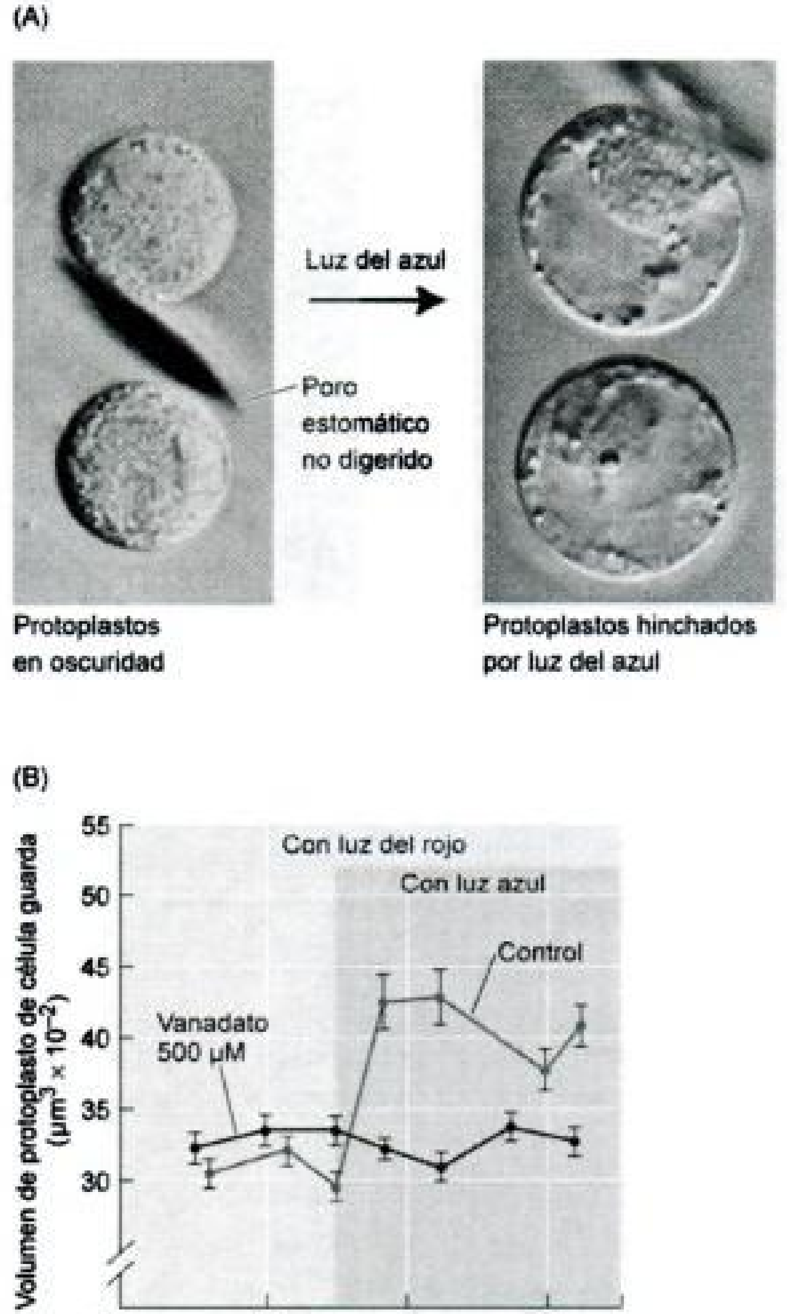


Figura 18.12 Hinchamiento de los protoplastos de células guarda estimulado por luz del azul. (A) En ausencia de una pared celular rígida, los protoplastos de células guarda de cebolla (*Allium cepa*) se hinchan. (B) La luz del azul estimula el hinchamiento de los protoplastos de células guardas de haba (*Vicia faba*), y el vanadato, un inhibidor de la H^+-ATPasa, inhibe este hinchamiento. La luz azul estimula la incorporación de iones y agua en los protoplastos que, en las células guarda intactas, proporcionan la fuerza mecánica que dirige el aumento de la apertura estomática. (A, según Zeiger y Hepler 1977; B, según Amodeo y col. 1992).

rente del espectro de acción para la fotosíntesis, indica que, además de la fotosíntesis, las células guarda responden específicamente a la luz del azul.

Cuando las células guarda son tratadas con celulasas, que digieren las paredes celulares, se liberan los *protoplastos de las células guarda*. Los protoplastos de las células guarda se hinchan cuando son iluminados con luz del azul (Figura 18.12), indicando que la luz del azul es percibida por las propias células guarda. El hinchamiento de los protoplastos de la célula guarda también indica cómo funcionan las células guarda intactas. La captación de iones estimulada por la luz y la acumulación de solutos orgánicos hace disminuir el potencial osmótico celular (aumenta la presión osmótica). Como consecuencia, el agua fluye hacia su interior, provocando un aumento de la turgencia que en las células guarda con paredes intactas se traduce mecánicamente en un aumento de la apertura estomática (véase el capítulo 4). En ausencia de la pared celular, el aumento de la presión osmótica mediado por la luz del azul provoca que el protoplasto de la célula guarda se hinche.

La luz activa una bomba de protones en la membrana plasmática de la célula guarda

Cuando protoplastos de células guarda de haba (*Vicia faba*) son irradiados con luz del azul bajo un fondo de luz del rojo, el pH del medio de suspensión se acidifica (Figura 18.13). Esta acidificación inducida por la luz del azul es bloqueada por in-

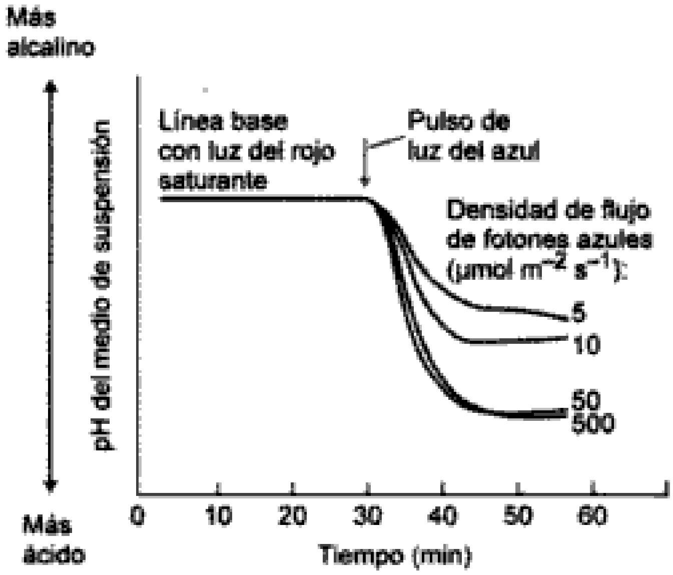


Figura 18.13 Acidificación de un medio de suspensión de protoplastos de células guarda de *Vicia faba* estimulada por un pulso de luz del azul de 30 s. La acidificación resulta de la estimulación de la H⁺-ATPasa de la membrana plasmática por la luz del azul y está asociada con el hinchamiento del protoplasto (véase la figura 18.12). (Según Shimazaki y col. 1986).

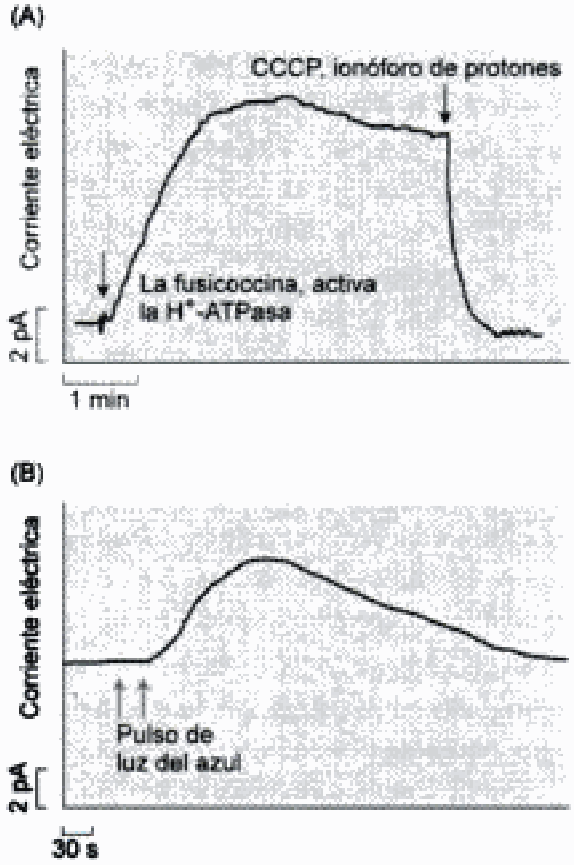


Figura 18.14 En experimentos de *patch clamp* se puede medir la activación de la H+-ATPasa en la membrana plasmática de protoplastos de células guarda por la fusicoccina y la luz del azul como una corriente eléctrica. (A) Corriente eléctrica de salida (medida en picoamperios, pA) en la membrana plasmática de las células guarda estimulada por la toxina fúngica fusicoccina, un activador de la H+-ATPasa. La corriente es suprimida por el ionóforo protónico CCCP (carbonilcianuro *m*-diclorofenolhidrazona). (B) Corriente eléctrica de salida en la membrana plasmática de un protoplasto de célula guarda estimulado por un pulso de luz del azul. Estos resultados indican que la luz del azul estimula la H+-ATPasa. (A, según Serrano y col. 1998; B, según Assmann y col. 1985).

hibidores que disipan los gradientes de pH, como el CCCP (descrito a continuación), y por inhibidores de la H^+-ATPasa, como el vanadato (Figura 18.12C; véase también el capítulo 6).

Estos resultados indican que *la acidificación es producto de la activación por la luz del azul de una protón ATPasa en la membrana plasmática de las células guarda*, que bombea protones al medio de suspensión de los protoplastos y reduce su pH. En hojas intactas, esta estimulación del bombeo de protones por la luz del azul reduce el pH del espacio apoplástico que rodea las células guarda. La ATPasa de la membrana plasmática de las células guarda ha sido aislada y caracterizada ampliamente (Kinoshita y col. 2001).

La activación de bombas electrogénicas como la protón ATPasa se puede medir en experimentos de *patch clamp*, como una corriente a través de la membrana plasmática (el patch clamp se describe con más detalle en el **tema web 6.2**). En la figura 18.14A se muestra un registro de esta técnica para protoplastos de células guarda tratados con la toxina fúngica fusicoccina, un activador bien caracterizado de las ATPasas de la membrana plasmática. La exposición a la fusicoccina estimula una corriente eléctrica de salida, que es eliminada por el ionóforo protónico carbonilcianuro m-clorofenilhidrazona (CCCP). Este ionóforo protónico provoca que la membrana plasmática sea muy permeable a los protones, impidiendo la formación de un gradiente a través de la membrana y eliminando el flujo neto de salida de protones.

La relación entre el bombeo de protones en la membrana plasmática de las células guarda y la apertura estomática se hace evidente si se tiene en cuenta que la fusicoccina estimula tanto la salida de protones en protoplastos de las células guarda como la apertura estomática, y que el CCCP inhibe la apertura estimulada por la fusicoccina. El incremento de las tasas de bombeo de protones en función de la tasa de fluencia de la luz del azul (véase la figura 18.13) indica que el aumento de la proporción de fotones azules de la radiación solar que alcanzan la hoja provoca una mayor apertura estomática.

La estrecha relación entre el número de fotones incidentes de luz del azul, el bombeo de protones en la membrana plasmática de las células guarda y la apertura estomática sugieren que las respuestas de los estomas a la luz del azul podrían funcionar como un sensor del flujo de fotones que alcanza la célula guarda.

Los pulsos de luz del azul bajo un fondo saturante de luz del rojo también estimulan la corriente eléctrica de salida desde los protoplastos de la célula guarda (véase la figura 18.14B). Las medidas de la acidificación mostradas en la figura 18.13 indican que la corriente eléctrica de salida medida en los experimentos de patch clamp es producida por protones.

Las respuestas de la luz del azul tienen cinéticas y períodos de latencia característicos

Algunas de las características de las respuestas a los pulsos de luz del azul destacan algunas propiedades importantes de las respuestas a la luz del azul: la persistencia de la respuesta después de haber cesado la señal luminosa e intervalos significativos que separan el inicio de la señal luminosa y el inicio de la respuesta.

Al contrario que en las respuestas fotosintéticas típicas, que son activadas muy rápidamente tras el inicio de la señal luminosa y que cesan al detenerse ésta (véase, por ejemplo, figura 7.13), las respuestas a la luz del azul se producen a velocidades máximas durante varios minutos tras la aplicación del pulso (véase la figura 18.14B). Esta propiedad puede ser explicada por una forma fisiológicamente inactiva del fotorreceptor de la luz del azul que es convertida en la forma activa por la luz del azul, de forma que revierte lentamente a la forma fisiológicamente inactiva en ausencia de luz del azul (Iino y col. 1985). La velocidad de la respuesta a un pulso de luz del azul podría entonces depender del tiempo que transcurra entre la reversión de la forma activa a la forma inactiva.

Otra propiedad de la respuesta a pulsos de luz del azul es el período de latencia, que retrasa unos 25 s tanto la respuesta de acidificación como la corriente eléctrica de salida, estimuladas las dos por la luz del azul (véanse las figuras 18.13 y 18.14). Este tiempo probablemente es el necesario para que la cascada de transducción de señal procedente del fotorreceptor llegue a la H^+-ATPasa y que genere el gradiente de protones. Se han medido períodos de latencia similares para la inhibición de la elongación del hipocotilo dependiente de la luz del azul, que analizamos anteriormente.

La luz del azul regula las relaciones osmóticas de las células guarda

La luz del azul modula la osmorregulación de la célula guarda a través de la activación del bombeo de protones (descrita anteriormente) y a través de la estimulación de la síntesis de solutos orgánicos. Antes de analizar estas respuestas a la luz del azul, describiremos brevemente los principales solutos osmóticamente activos en las células guarda.

El botánico Hugo von Mohl propuso en 1856 que los cambios en la presión de turgencia de las células guarda proporcionaban la fuerza mecánica que propiciaba la apertura estomática. El fisiólogo vegetal F. E. Lloyd propuso, en 1908, la hipótesis de que la turgencia de las células guarda estaba regulada por cambios osmóticos que resultaban de las interconversiones almidón-azúcar, un concepto que condujo a la hipótesis almidón-azúcar de los movimientos estomáticos. El descubrimiento de los cambios en las concentraciones de potasio en las células guarda en los años 1960s dio lugar a la teoría actual de la osmorregulación de la célula guarda por el potasio y sus contraiones.

La concentración de potasio en las células guarda aumenta cuando los estomas se abren, desde unos 100 mM en el estado cerrado a 400–800 mM en el estado abierto, dependiendo de la especie y de las condiciones experimentales. Estas grandes variaciones en la concentración del potasio, que está cargado positivamente, son equilibradas por los iones Cl^- y malato^{2-} (Figura 18.15A). En especies del género *Allium*, como la cebolla (*Allium cepa*), los iones K^+ se equilibran únicamente con Cl^-. En la mayoría de las especies, no obstante, el flujo de potasio se equilibra con cantidades variables de Cl^- y del anión orgánico malato^{2-} (Talbott y col. 1996).

El ión Cl^- es incorporado al interior de las células guarda durante la apertura estomática y expulsado al exterior durante el cierre estomático. Por el contrario, el malato se sintetiza en el citosol de las células guarda, en una ruta metabólica que emplea

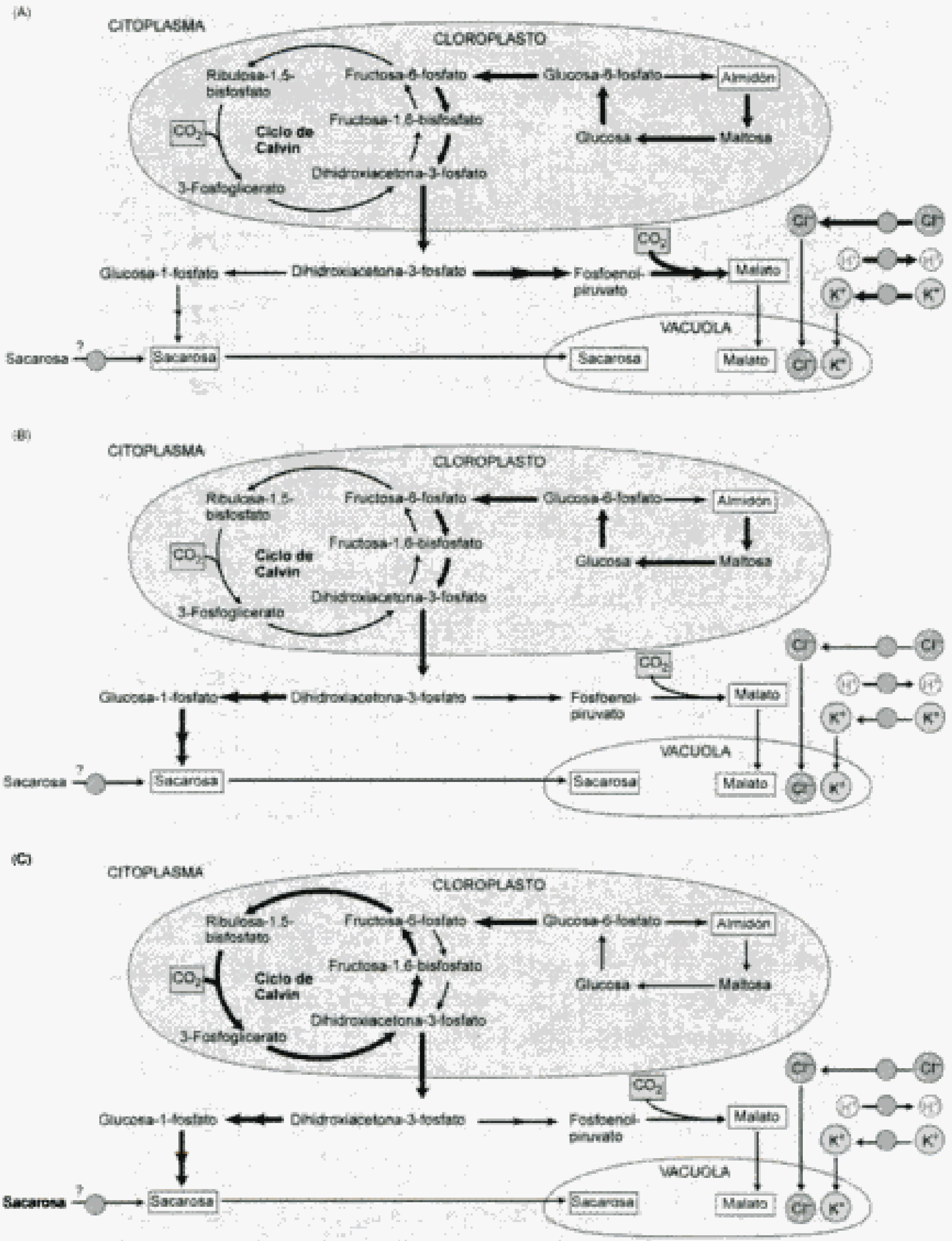

(A)
CITOPLASMA
CLOROPLASTO
Ribulosa-1,5-bisfosfato
Fructosa-6-fosfato
Glucosa-6-fosfato
Almidón
Fructosa-1,6-bisfosfato
CO_2
Ciclo de Calvin
Glucosa
Maltosa
Dihidroxiacetona-3-fosfato
3-Fosfoglicerato
Cl^-
CO_2
H^+
K^+
Glucosa-1-fosfato
Dihidroxiacetona-3-fosfato
Fosfoenol-piruvato
Malato
VACUOLA
Sacarosa
?
Sacarosa
Sacarosa
Malato
Cl^-
K^+
(B)
CITOPLASMA
CLOROPLASTO
Ribulosa-1,5-bisfosfato
Fructosa-6-fosfato
Glucosa-6-fosfato
Almidón
Fructosa-1,6-bisfosfato
CO_2
Ciclo de Calvin
Glucosa
Maltosa
Dihidroxiacetona-3-fosfato
3-Fosfoglicerato
Cl^-
CO_2
H^+
K^+
Glucosa-1-fosfato
Dihidroxiacetona-3-fosfato
Fosfoenol-piruvato
Malato
VACUOLA
Sacarosa
?
Sacarosa
Sacarosa
Malato
Cl^-
K^+
(C)
CITOPLASMA
CLOROPLASTO
Ribulosa-1,5-bisfosfato
Fructosa-6-fosfato
Glucosa-6-fosfato
Almidón
Fructosa-1,6-bisfosfato
CO_2
Ciclo de Calvin
Glucosa
Maltosa
Dihidroxiacetona-3-fosfato
3-Fosfoglicerato
Cl^-
CO_2
H^+
K^+
Glucosa-1-fosfato
Dihidroxiacetona-3-fosfato
Fosfoenol-piruvato
Malato
VACUOLA
Sacarosa
?
Sacarosa
Sacarosa
Malato
Cl^-
K^+

Figura 18.15 Tres rutas osmorreguladoras distintas en las células guarda. Las flechas más gruesas identifican las principales etapas metabólicas de cada ruta que conducen a la acumulación de solutos osmóticamente activos en las células guarda. (A) El potasio y sus contraiones. El potasio y el cloruro son incorporados en procesos de transporte secundario dirigidos por un gradiente de protones; el malato se forma por hidrólisis del almidón. (B) Acumulación de sacarosa por hidrólisis del almidón. (C) Acumulación de sacarosa por fijación fotosintética de carbono. También se indica la posible incorporación de sacarosa apoplástica. (Según Talbott y Zeiger 1998).

esqueletos carbonados generados por la hidrólisis del almidón (véase la figura 18.15B). La concentración de malato en las células guarda disminuye durante el cierre estomático, pero falta por establecer si el malato es catabolizado en la respiración mitocondrial o expulsado al apoplasto.

El potasio y el cloruro son incorporados a las células guarda a través de mecanismos de transporte secundario dirigidos por el gradiente de potencial electroquímico de H^+, $\Delta\mu_{H^+}$, generado por el bombeo de protones (véase el capítulo 6) descrito anteriormente en este capítulo. La salida de los protones hace que la diferencia de potencial eléctrico a través de la membrana plasmática de las células guarda se haga más negativa. Se han medido hiperpolarizaciones dependientes de la luz de hasta 50 mV. Además, el bombeo de protones genera un gradiente de pH de 0,5 a 1.

El componente eléctrico del gradiente de protones proporciona la fuerza que dirige la incorporación pasiva de los iones potasio a través de los canales de potasio regulados por voltaje (véase el capítulo 6) (Schroeder y col. 2001). Se cree que el cloruro es incorporado a través de canales aniónicos. Así, la estimulación del bombeo de protones por la luz del azul juega un papel fundamental en la osmorregulación de las células guarda durante los movimientos estomáticos dependientes de la luz.

Los cloroplastos de las células guarda (véase la figura 18.8) contienen grandes granos de almidón. Su contenido en almidón disminuye durante la apertura estomática y aumenta durante el cierre. El almidón, un polímero de glucosa insoluble y de gran masa molecular, no contribuye al potencial osmótico celular, pero la hidrólisis del almidón en azúcares solubles provoca un descenso del potencial osmótico (o un aumento de la presión osmótica) de las células guarda. En el proceso contrario, la síntesis de almidón disminuye la concentración de azúcares, provocando un aumento del potencial osmótico celular, que la hipótesis almidón-azúcar predice que está asociado con el cierre estomático.

Con el descubrimiento de la función principal del potasio y su correspondiente ión negativo en la osmorregulación de la célula guarda, la hipótesis del almidón-azúcar dejó de considerarse como importante (Outlaw 1983). Estudios recientes, sin embargo, descritos en la siguiente sección, han caracterizado una fase osmorreguladora de las células guarda en la que la sacarosa es el soluto osmóticamente activo dominante.

La sacarosa es un soluto osmóticamente activo en las células guarda

Estudios sobre los ciclos diarios de los movimientos estomáticos en hojas intactas han mostrado que el contenido de potasio de las células guarda aumenta en paralelo con la apertura a primeras horas de la mañana, pero disminuye durante las primeras horas de la tarde en condiciones en las que la apertura continua aumentando. El contenido de sacarosa de las células guarda aumenta lentamente por la ma-

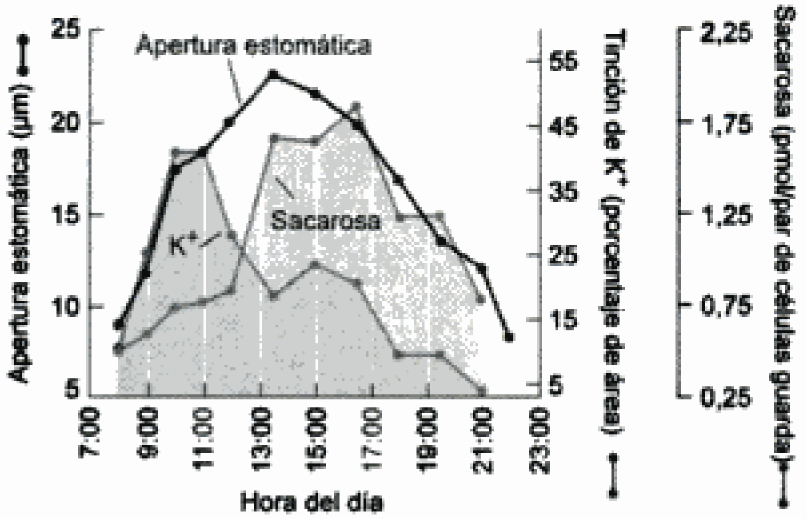


Figura 18.16 Ciclo diario de los cambios en la apertura estomática y en el contenido de potasio y sacarosa de las células guarda de hojas intactas de haba (*Vicia faba*). Estos resultados indican que los cambios en el potencial osmótico necesarios para la apertura estomática por la mañana están mediados por el potasio y sus contraiones, mientras que los cambios por la tarde están mediados por la sacarosa. (Según Talbott y Zeiger 1998).

ñana, aunque con la salida del potasio, la sacarosa se convierte en el soluto osmóticamente activo dominante, de forma que el cierre estomático al final del día es paralelo al descenso del contenido de sacarosa de las células guarda (Figura 18.16) (Talbott y Zeiger 1998).

Estas características osmorreguladoras indican que la apertura estomática está asociada principalmente con la incorporación de K^+ y el cierre estomático está asociado con un descenso en el contenido de sacarosa (véase la figura 18.16). La necesidad de diferentes fases osmorreguladoras, dominadas por potasio y sacarosa, no está clara, aunque podría ser la base de aspectos reguladores de la función estomática. El potasio podría ser el soluto escogido para la apertura diaria que se produce al inicio del día. La fase de la sacarosa estaría asociada con la coordinación de los movimientos estomáticos en la epidermis con las tasas fotosintéticas en el mesofilo.

¿Dónde se originan los solutos osmóticamente activos? Se han caracterizado cuatro rutas metabólicas diferentes que pueden aportar solutos osmóticamente activos a las células guarda (véase la figura 18.15):

1. La incorporación de K^+ y Cl^- acoplada a la biosíntesis de malato^{2-}
2. La producción de sacarosa a partir de la hidrólisis del almidón
3. La producción de sacarosa por la fijación fotosintética del carbono en los cloroplastos de la célula guarda
4. La incorporación de la sacarosa apoplástica generada por la fotosíntesis en el mesofilo

Dependiendo de las condiciones ambientales, se pueden activar una o varias rutas. Por ejemplo, la apertura estomática estimulada por la luz del rojo en epidermis aislada depende sólo de la sacarosa generada por la fotosíntesis en la célula guarda sin una incorporación detectable de K^+. Las otras rutas osmorreguladoras pueden ser selectivamente activadas en otras condiciones ambientales (véase el **tema web 18.1**). Los estudios actuales están empezando a clarificar los misterios de la osmorregulación de las células guarda en las hojas intactas (Dietrich y col. 2001).

LOS FOTORRECEPTORES DE LA LUZ DEL AZUL

Los experimentos realizados por Charles Darwin y su hijo Francis en el siglo diecinueve determinaron que el sitio de fotorrecepción del fototropismo estimulado por la luz del azul es el ápice del coleóptilo. Las primeras hipótesis sobre los receptores de la luz del azul se centraron en carotenoides y flavinas (para una descripción histórica de las primeras investigaciones sobre los fotorreceptores de la luz del azul, véase el **tema web 18.2**). A pesar de las intensas investigaciones, no se produjeron avances significativos en la identificación de los receptores de la luz del azul hasta principios de 1990. En el caso del fototropismo y la inhibición de la elongación del tallo, los avances fueron el resultado de la identificación de mutantes de respuestas clave a la luz del azul y el posterior aislamiento de un gen.

La clonación del gen condujo a la identificación y caracterización de la proteína codificada por el gen. En el caso de las células guarda estomáticas, se ha postulado que el carotenoide zeaxantina es el cromóforo del fotorreceptor de la luz del azul, mientras que la identidad de la apoproteína permanece sin determinar. Para un análisis detallado de las diferencias entre los fotorreceptores carotenoides y flavinas, véase el **tema web 18.3**. En la sección siguiente describiremos los tres fotorreceptores asociados con las respuestas a la luz del azul: criptocromos, fototropinas y zeaxantina.

Los criptocromos están implicados en la inhibición de la elongación del tallo

La luz del azul provoca la inhibición de la elongación del hipocotilo en el mutante *hy4* de *Arabidopsis*, tal y como hemos descrito anteriormente. Como consecuencia de este defecto genético, las plantas *hy4* muestran un hipocotilo elongado cuando son irradiadas con luz del azul. El aislamiento del gen *HY4* mostró que dicho gen codifica una proteína de 75 kDa con una homología de secuencia significativa con la **fotoliasa** de DNA bacteriana, un enzima activado por la luz del azul que repara, en el DNA, dímeros de piridina formados como consecuencia de una exposi-

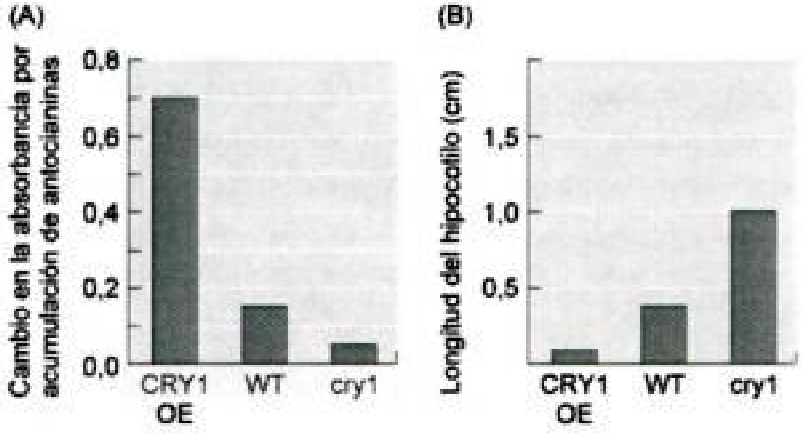


Figura 18.17 La luz del azul estimula la acumulación de antocianina (A) y la inhibición de la elongación del tallo (B) en plántulas trangénicas y plántulas mutantes de *Arabidopsis*. Estos gráficos de barras muestran la sobreexpresión del gen que codifica CRY1 (CRY1 OE) en plantas transgénicas, y la expresión en el tipo silvestre (WT) y en los mutantes cry1. El aumento en la respuesta a la luz del azul de las plantas transgénicas que sobreexpresan el gen que codifica CRY1 demuestra la importancia de la función de este producto génico en la estimulación de la biosíntesis de antocianinas y de la elongación del tallo. (Según Ahmad y col. 1998).

ción a una radiación ultravioleta (Ahmad y Cashmore 1993). Debido a esta similitud de secuencias, la proteína hy4, posteriormente denominada **criptocromo 1 (cry1)**, se propuso como el fotorreceptor de la luz del azul que media la inhibición de la elongación del tallo.

Las fotoliasas son proteínas pigmento que contienen una flavina adenina dinucleótido (FAD; véase la figura 11.2B) y una pterina. Las **pterinas** son derivados de la pteridina que absorben luz y que, con frecuencia, funcionan como pigmentos en insectos, peces y pájaros (véase en el capítulo 12 la estructura de la pterina). Cuando la proteína cry1 se expresa en *Escherichia coli*, se une a un FAD y una pterina, aunque carece de actividad fotoliasa detectable. No se dispone de información acerca del cromóforo(s) que se une a cry1 *in vivo*, o de la naturaleza de las reacciones fotoquímicas en las que participa cry1, y que iniciarían la cascada de transducción de señal postulada en respuesta a la luz del azul por cry1.

La evidencia más importante de la función de cry1 en la inhibición de la elongación del tallo mediada por la luz del azul proviene de estudios de sobreexpresión. La sobreexpresión de la proteína CRY1 en plantas transgénicas de tabaco o de *Arabidopsis* provoca una inhibición de la elongación del hipocotilo estimulada por la luz del azul más fuerte que la observada en el tipo silvestre, así como un aumento en la producción de antocianinas, otra respuesta a la luz del azul (Figura 18.17). Así, la sobreexpresión de CRY1 provoca un aumento de la sensibilidad a la luz del azul en las plantas transgénicas. Otras respuestas a la luz del azul, como el fototropismo y los movimientos estomáticos dependientes de la luz del azul, parecen ser normales en el fenotipo del mutante *cry1*.

En *Arabidopsis* se ha aislado un segundo producto génico homólogo a CRY1, llamado CRY2 (Lin 2000). Tanto CRY1 como CRY2 parecen ser ubicuos en todo el reino vegetal. Una diferencia esencial entre ellos es que CRY2 se degrada rápidamente con la luz, mientras que CRY1 es estable en plántulas que crecen en presencia de luz.

Las plantas transgénicas que sobreexpresan el gen que codifica CRY2 muestran un ligero aumento de la inhibición de la elongación del hipocotilo, indicando que a diferencia de CRY1, CRY2 no tiene una función principal en la inhibición de la elongación del tallo. Por otro lado, las plantas transgénicas que sobreexpresan el gen que codifica CRY2 muestran un incremento en la expansión del cotiledón estimulada por la luz del azul, otra respuesta a la luz del azul. Además, se ha visto que CRY1 está implicado en el funcionamiento del reloj circadiano en *Arabidopsis* (véase el capítulo 17), y que tanto CRY1 como CRY2 se hallan implicados en la inducción de la floración (véase el capítulo 24). Se han encontrado homólogos a los criptocromos que regulan el reloj circadiano en *Drosophila*, ratones y humanos.

Las fototropinas están implicadas en el fototropismo y en los movimientos del cloroplasto

Recientemente se han aislado algunos mutantes que carecían del fototropismo del hipocotilo dependiente de la luz del azul y que han aportado una valiosa información sobre los acontecimientos celulares que preceden a la curvatura. Uno de estos mutantes, el mutante *nph1* (del inglés *n*on*p*hototropic *h*ypocotyl *1*, hipocotilo no fototrópico 1), se ha identificado como genéticamente independiente del mutante *hy4* (*cry1*) analizado anteriormente. El mutante *nph1* carece de la respuesta fototrópica en el hipocotilo, pero presenta una inhibición normal de la elongación del hipocotilo estimulada por la luz del azul, fenotipo contrario al mutante *hy4*. Recientemente se ha renombrado al gen *nph1* como *phot1* y la proteína que codifica se ha llamado **fototropina** (Briggs y Christie 2002).

El extremo C-terminal de la fototropina es una serina/treonina quinasa. El extremo N-terminal contiene dos repeticiones, de unos 100 aminoácidos cada una, que muestran similitudes de secuencia con otras proteínas implicadas en señalización en bacterias y mamíferos. Las proteínas con secuencias similares en el extremo N-terminal de la fototropina se unen a cofactores flavina. Estas proteínas son sensores de oxígeno en *Escherichia coli* y *Azotobacter*, y sensores de voltaje en canales de potasio en *Drosophila* y vertebrados.

Cuando se expresa en células de insectos, el dominio N-terminal de la fototropina se une a un mononucleótido de flavina (FMN) (véase la figura 11.2B y el **ensayo web 18.2**) y presenta una reacción de autofosforilación dependiente de la luz del azul. Esta reacción es similar a la fosforilación dependiente de la luz del azul de una proteína de membrana de 120 kDa que se encuentra en las regiones en crecimiento de las plántulas etioladas.

El genoma de *Arabidopsis* contiene un segundo gen, *phot2*, que está relacionado con *phot1*. El mutante *phot1* carece del fototropismo del hipocotilo en respuesta a la luz del azul de baja intensidad (0,01-1 μmol m^{-2} s^{-1}), pero retiene la respuesta fototrópica a intensidades mayores (1-10 μmol m^{-2} s^{-1}). El mutante *phot2* muestra una respuesta fototrópica normal, pero el doble mutante *phot1/phot2* está seriamente alterado a bajas y altas intensidades. Estos datos indican que tanto *phot1* como *phot2* están implicados en la respuesta fototrópica, con *phot2* funcionando a altas tasas de fluencia de luz.

El movimiento de los cloroplastos activado por la luz del azul. Las hojas muestran una característica adaptativa que puede alterar la distribución intracelular de sus cloroplastos para controlar la absorción de la luz y evitar sus daños (véase la figura 9.5). El espectro de acción para el movimiento de los cloroplastos muestra la estructura de «tres dedos» típica de las respuestas a la luz del azul. Cuando la radiación incidente es débil, los cloroplastos se agrupan en las superficies superiores e inferiores de las células del mesofilo (la respuesta que maximiza la absorción de luz; véase la figura 9.5B), absorbiendo así la máxima cantidad de luz.

En condiciones de luz intensa, los cloroplastos se trasladan a las superficies celulares que son paralelas a la luz incidente (la respuesta que minimiza la absorción de luz; véase la figura 9.5C), minimizando así la absorción de la luz. Estudios recientes han mostrado que las células del mesofilo del mutante *phot1* tienen una respuesta para minimizar la luz incidente y una respuesta incompleta para maximizar la absorción de la luz de baja intensidad. Las células del mutante *phot2* muestran una respuesta de maximización normal, pero carecen de la respuesta para minimizar la luz absorbida en condiciones de luz intensa. Las células del doble mutante *phot1/phot2* carecen de ambas respuesta (Sakai y col. 2001). Estos resultados indican que *phot2* tiene un papel fundamental en la respuesta para reducir la cantidad de luz absorbida y que, tanto *phot1* como *phot2* contribuyen a la respuesta que maximiza la absorción de la luz.

El carotenoide zeaxantina está implicado en la fotorrecepción de las células guarda

Se ha indicado que el carotenoide zeaxantina es un fotorreceptor de la apertura estomática estimulada por la luz del azul. Recordaremos de los capítulos 7 y 9 que la zeaxantina es uno de los tres carotenoides del ciclo de las xantofilas en los cloroplastos, que protege a los pigmentos fotosintéticos de un exceso de radiación. En

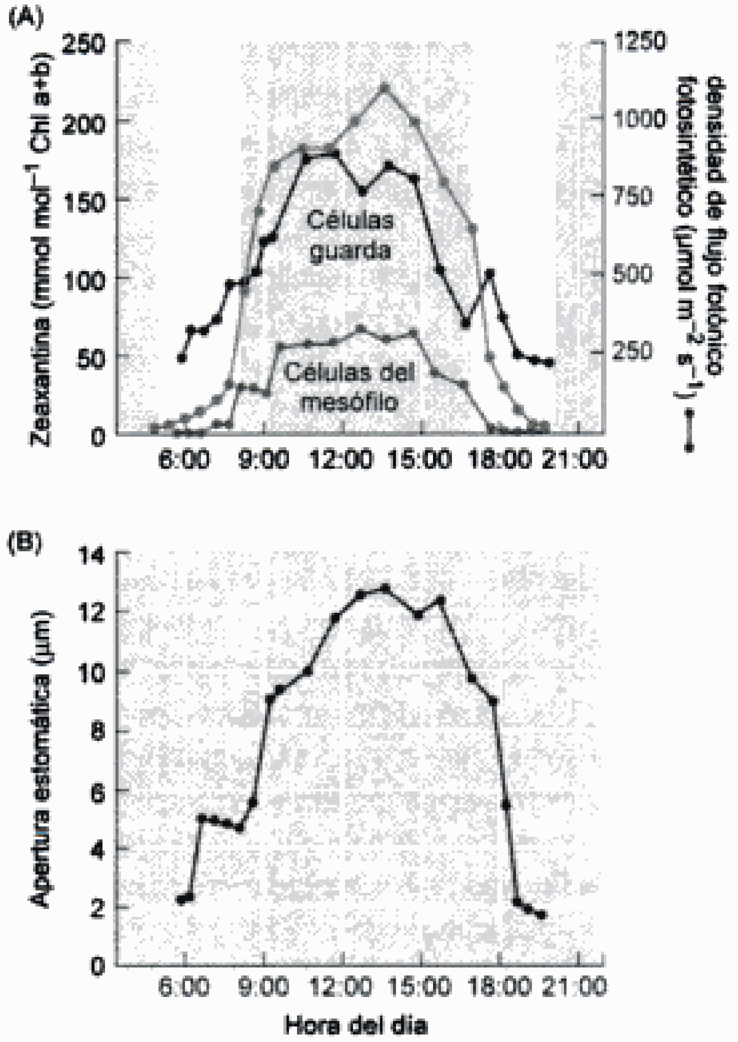


Figura 18.18 El contenido de zeaxantina de las células guarda se ajusta fielmente a la radiación fotosintéticamente activa y a la apertura estomática. (A) Radiación fotosintéticamente activa que alcanza la superficie de la hoja a lo largo del día y el contenido de zeaxantina de las células guarda y de las células del mesofilo de hojas de *Vicia faba* que han crecido en invernadero. Las áreas blancas en el gráfico destacan la diferente sensibilidad del ciclo de las xantofilas en el mesofilo y los cloroplastos de las células guarda en condiciones de baja irradiancia, presentes al inicio y al final del día. (B) Aperturas estomáticas de las mismas hojas utilizadas para medir el contenido de zeaxantina en las células guarda. (Según Srivastava y Zeiger 1995a).

las células guarda, sin embargo, los cambios en el contenido de zeaxantina en función de la radiación incidente son diferentes de los cambios en las células del mesofilo (Figura 18.18).

En las plantas de sol, como *Vicia faba*, la acumulación de zeaxantina en el mesofilo comienza a unos 200 µmol m^{-2} s^{-1} y no se detecta zeaxantina ni por la mañana temprano ni a últimas horas de la tarde. Por el contrario, el contenido de zeaxantina en las células guarda sigue estrechamente la radiación solar incidente en la superficie de la hoja durante todo el día, y prácticamente es proporcional al flujo de foto-

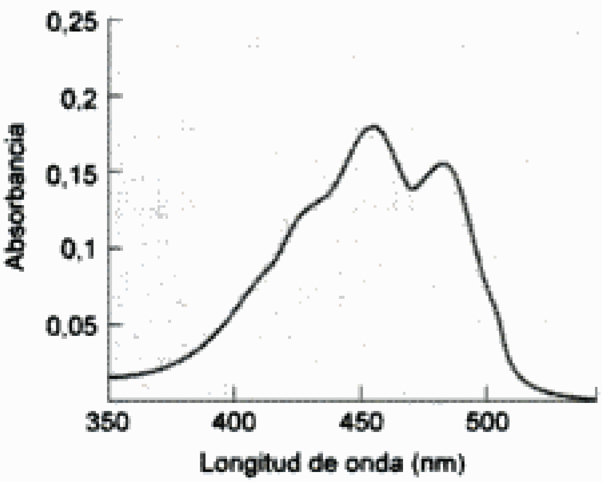


Figura 18.19 Espectro de absorción de la zeaxantina en etanol.

nes incidente por la mañana temprano y a últimas horas de la tarde. Varias características clave de los cloroplastos de las células guarda indican que su principal función es la transducción de señal y no la fijación del carbono (Zeiger y col. 2002).

Las evidencias recopiladas indican que la zeaxantina es el fotorreceptor de la luz del azul en las células guarda:

- El espectro de absorción de la zeaxantina (Figura 18.19) coincide con el espectro de acción para la apertura estomática estimulada por la luz del azul (véase la figura 18.11).
- En el comportamiento diario de la apertura estomática en hojas intactas de plantas cultivadas en un invernadero, se observa que la radiación incidente, el contenido de zeaxantina de las células guarda y la apertura estomática están estrechamente relacionadas.
- La sensibilidad a la luz del azul de las células guarda se incrementa en función de su concentración de zeaxantina. Experimentalmente, la concentración de zeaxantina en las células guarda puede ser modificada por un aumento de las tasas de fluencia de la luz del rojo. Cuando las células guarda de tiras epidérmicas iluminados con tasas de fluencia de luz del rojo crecientes son expuestas a la luz del azul, la apertura estomática resultante estimulada por la luz del azul está relacionada linealmente con la tasa de fluencia de la radiación de fondo de la luz del rojo (véase el tratamiento en el tipo silvestre en la figura 18.20) y con el contenido de zeaxantina (Srivastava y Zeiger 1995b). La misma relación entre el fondo de la luz del rojo, el contenido de zeaxantina y la sensibilidad a la luz del azul se ha encontrado en el fototropismo de coleóptilos de maíz estimulados por la luz del azul (véase el **tema web 18.4**).
- La apertura estomática estimulada por la luz del azul es inhibida completamente por 3 mM de ditiotreitol (DTT), y la inhibición es dependiente de la con-

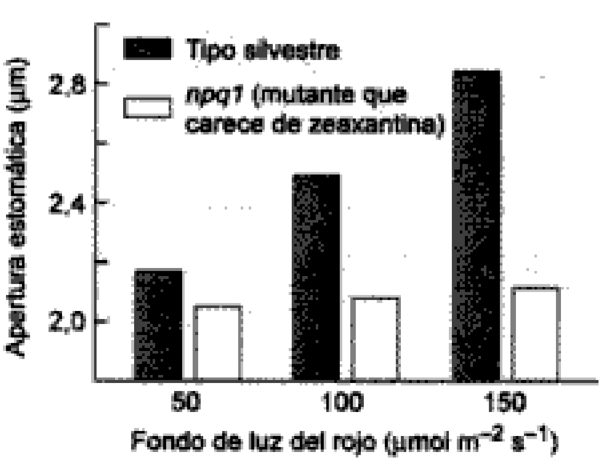


Figura 18.20 Respuestas estomáticas a la luz del azul en el tipo silvestre y *npq1*, un mutante de *Arabidopsis* que carece de zeaxantina. Se irradiaron los estomas de epidermis aislada con luz del rojo durante 2 horas, seguido de una hora con 20 µmol m^{-2} s^{-1} de luz del azul. La apertura estomática en el tipo silvestre era proporcional a la tasa de fluencia de la luz del rojo de fondo. Por el contrario, los estomas de *npq1* carecían de esta respuesta y mostraban una apertura reducida tanto con la luz del azul como con la del rojo, probablemente mediada por la fotosíntesis de las células guarda. (Según Frechilla y col. 1999).

centración. La formación de la zeaxantina está bloqueada por DTT, un agente reductor que reduce los enlaces S-S a grupos –SH e inhibe de forma efectiva el enzima que convierte la violaxantina en zeaxantina. La especificidad de la inhibición por el DTT de la apertura estomática estimulada por la luz del azul, y su dependencia de la concentración, indican que la zeaxantina de las células guarda es necesaria para la respuesta estomática a la luz del azul.

- En la especie CAM facultativa *Mesembryanthemum crystallinum* (véanse los capítulos 8 y 25), la acumulación de sales cambia su metabolismo del carbono del modo C_3 a CAM. En el modo C_3, los estomas acumulan zeaxantina y muestran una respuesta a la luz del azul. La inducción CAM inhibe la capacidad de las células guarda de acumular zeaxantina y de responder a la luz del azul (Tallman y col. 1997).

***La respuesta a la luz del azul del mutante* npq1 *de Arabidopsis*.** El mutante *npq1* (del inglés *n*on*p*hotochemical *q*uenching *1*, atenuación no fotoquímica 1) de *Arabidopsis*, tiene una defecto genético en el enzima que convierte la violaxantina en zeaxantina (véase la figura 18.21) (Niyogi y col. 1998). Debido a esta mutación ni los cloroplastos del mesofilo ni los de las células guarda de *npq1* acumulan zeaxantina (Frechilla y col. 1999). La disponibilidad de este mutante ha permitido probar la hipótesis de la zeaxantina en células guarda en las que la acumulación de zeaxantina está genéticamente bloqueada.

Como la fotosíntesis en los cloroplastos de las células guarda es estimulada por la luz del azul (véase la figura 18.10), una prueba adecuada para la respuesta a la luz del

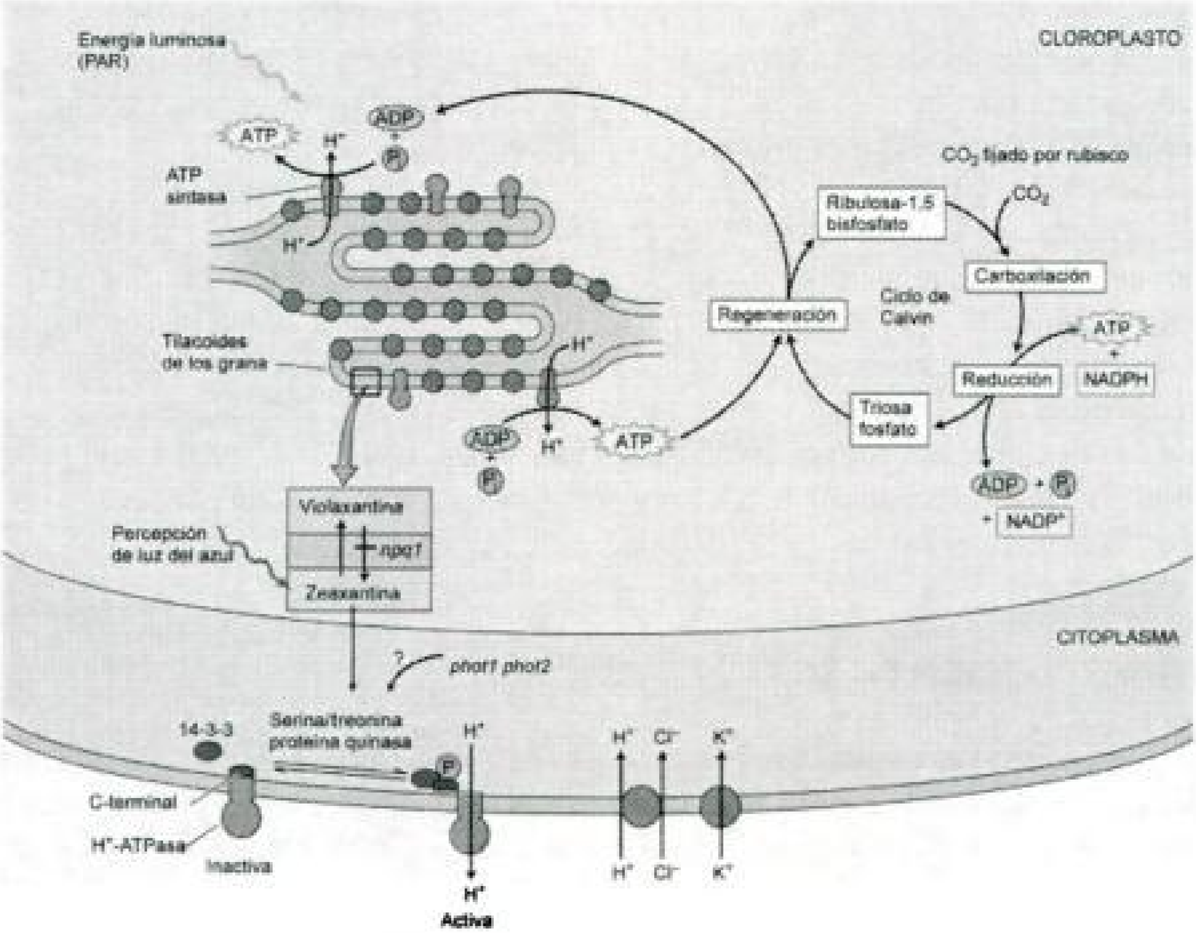

Energía luminosa (PAR)
CLOROPLASTO
ATP
H⁺
ADP
P
ATP sintasa
H⁺
CO₂ fijado por rubisco
Ribulosa-1,5 bisfosfato
CO₂
Carboxilación
Ciclo de Calvin
Regeneración
ATP
NADPH
Reducción
Tilacoides de los grana
H⁺
Triosa fosfato
ADP
P
H⁺
ATP
ADP + P
+ NADP⁺
Violaxantina
npq1
Percepción de luz del azul
Zeaxantina
CITOPLASMA
?
phot1 phot2
14-3-3
Serina/treonina proteína quinasa
P
H⁺
H⁺ Cl⁻ K⁺
C-terminal
H⁺-ATPasa
Inactiva
H⁺ Cl⁻ K⁺
H⁺
Activa

Figura 18.21 Cascada de transducción de señal de la apertura estomática estimulada por la luz del azul.

azul de los mutantes *npq1* que carecen de zeaxantina requiere un diseño experimental que asegure que cualquier otra respuesta a la luz del azul es específica de la luz del azul y no está mediada por la fotosíntesis. Como analizamos anteriormente en el capítulo, los espectros de acción proporcionan una prueba rigurosa de especificidad, pero la determinación de los espectros de acción es laboriosa y requiere mucho tiempo.

Otra opción es probar el aumento de la sensibilidad a la luz del azul en un fondo de luz del rojo, una característica específica de los movimientos estomáticos estimulados por la luz del azul (Assmann 1998), analizada anteriormente. En experimentos para probar el aumento de la respuesta a la luz del azul en *npq1* en un fondo de luz del rojo, los estomas que carecen de zeaxantina mostraron una apertura basal en respuesta a la luz del azul o del rojo, dirigida por la fotosíntesis de las células guarda, y fueron incapaces de mostrar cualquier aumento en la respuesta a la luz del azul.

La estrecha relación entre la radiación solar incidente y el contenido en zeaxantina en las células guarda, y el papel de la zeaxantina en la fotorrecepción de la luz del azul sugieren que el componente de la respuesta estomática a la luz del azul funciona como un sensor luminoso que acopla la apertura estomática con los flujos de fotones incidentes en la superficie de la hoja. El componente fotosintético, por otro lado, podría funcionar en el acoplamiento de las respuestas estomáticas con las tasas fotosintéticas en el mesofilo (véase el capítulo 9).

El mutante phot1/phot2 carece de la apertura estimulada por la luz del azul. Los estomas del doble mutante *phot1/phot2* no muestran una respuesta específica a la luz del azul, mientras que los mutantes *phot1 o phot2* tienen esta respuesta sólo ligeramente afectada (Kinoshita y col. 2001). Estos hallazgos implican a la fototropina en la respuesta de los estomas a la luz del azul (Figura 18.21). Será de gran importancia determinar si la fototropina es un segundo fotorreceptor de la luz del azul en las células guarda o si tiene una función reguladora en etapas posteriores de la cadena de transducción de señal.

TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL

Las cascadas de transducción de señal para las respuestas a la luz del azul abarcan desde la secuencia de acontecimientos que asocia la absorción inicial de la luz del azul por un cromóforo a la expresión final de una respuesta a la luz del azul, como son la apertura estomática o el fototropismo. En esta sección analizaremos la información disponible sobre las cascadas de transducción de señal para criptocromos, fototropina y zeaxantina.

Los criptocromos se acumulan en el núcleo

La similitud de la secuencia *cry1* y *cry2* con la fotoliasa sugiere que, al igual que la fotoliasa, los criptocromos inician su cascada de transducción de señal con la reducción de un cromóforo flavina por la luz y la subsiguiente reacción de transferencia electrónica a un aceptor electrónico (véase la figura 11.2). Sin embargo, no hay evidencias experimentales que impliquen cry1 o cry2 en reacciones redox.

Estudios recientes han mostrado que cry2, y en menor medida cry1, se acumulan en el núcleo. Esto sugiere que ambas proteínas podrían estar implicadas en la regulación de la expresión génica. Sin embargo, parte de la acción del criptocromo en respuesta a la luz del azul parece ocurrir en el citoplasma porque uno de los primeros defectos que se detectan en las plántulas mutantes de *cry1* es la inactivación de canales aniónicos en la membrana plasmática. Además, se ha demostrado que cry1 y cry2 interaccionan con el fitocromo A *in vivo*, y que son fosforilados por el fitocromo A *in vitro* (véase el capítulo 17 y el **ensayo web 18.3**).

La fototropina se une a FMN

Como describimos anteriormente, los productos de los genes *phot1* y *phot2* expresados *in vitro* se unen a FMN y sufren una fotofosforilación en respuesta a la luz del azul. Estudios espectroscópicos recientes han demostrado que los cambios espectroscópicos de la fototropina unida a FMN inducidos por la luz del azul se parecen a los producidos por la unión de FMN a un residuo de cisteína de la fototropina (Figura 18.22; véase también el **ensayo web 18.2**) (Swartz y col. 2001). Esta reacción es revertida por un tratamiento de oscuridad.

Estos resultados sugieren que una radiación del azul de la proteína unida a FMN en las células intactas produce un cambio conformacional de la fototropina que provoca la autofosforilación e inicia la cadena de transducción de señal. Se desconocen los acontecimientos celulares que siguen a la autofosforilación.

Los análisis de alta resolución de los cambios en la tasa de crecimiento que median la inhibición de la elongación del hipocotilo por la luz del azul han proporcionado una valiosa información sobre las interacciones entre la fototropina, cry1, cry2 y el fitocromo phyA (Parks y col. 2001). Después de un período de latencia de 30 s, las plántulas silvestres de *Arabidopsis* tratadas con luz del azul muestran un rápido descenso de las tasas de elongación durante los primeros 30 minutos y a partir de entonces crecen lentamente durante varios días (Figura 18.23).

El análisis de la misma respuesta en los mutantes *phot1*, *cry1*, *cry2* y *phyA* ha mostrado que la supresión de la elongación del tallo por la luz del azul durante la desetiolación de las plántulas la inicia *phot1* con *cry1* y, en menor medida, *cry2*, modulando la respuesta después de 30 minutos. La tasa de crecimiento lenta de los tallos en las plántulas tratadas con luz del azul es consecuencia principalmente de la acción persistente de cry1, y esta es la razón por la que los mutantes *cry1* de *Arabidopsis* tienen un hipocotilo largo comparado con el hipocotilo corto del tipo silvestre. Existe también una función para el fitocromo A al menos en las primeras etapas del crecimiento regulado por la luz del azul debido a que la inhibición del crecimiento no evoluciona normalmente en los mutantes *phyA*.

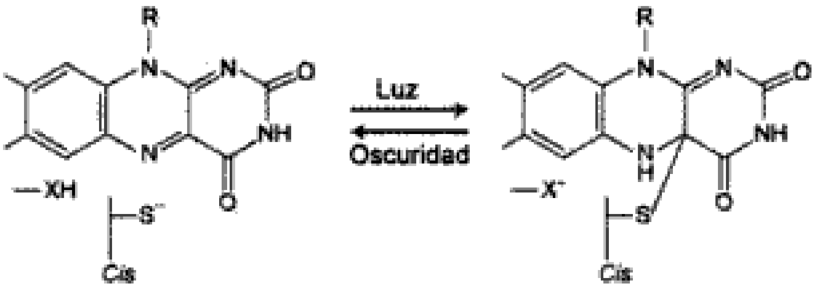


Figura 18.22 Propuesta de formación de un aducto de FMN y un residuo de cisteína de la proteína fototropina bajo radiación de luz del azul. XH y X⁻ representan un aceptor-dador de protones no identificado. (Según Briggs y Christie 2002).

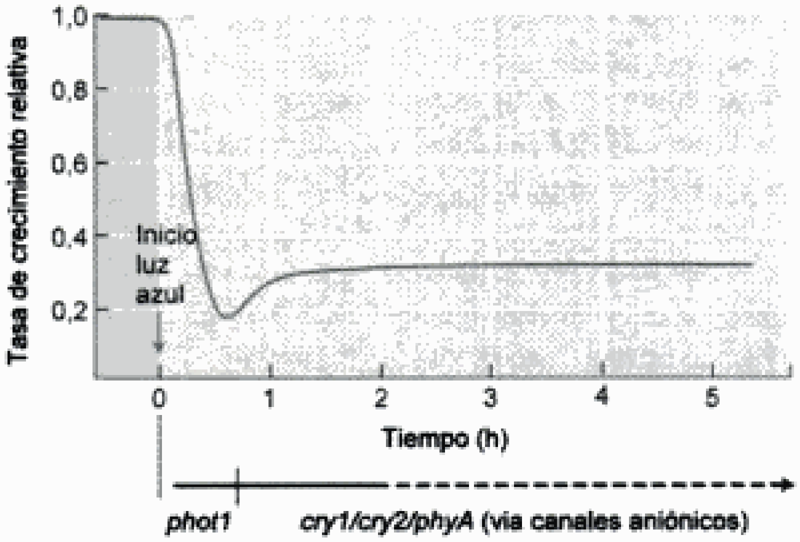


Figura 18.23 Cascada de transducción de señal de la inhibición de la elongación del tallo estimulada por la luz del azul en *Arabidopsis*. Las tasas de elongación en la oscuridad (0,25 mm h^{-1}) se normalizaron a 1. En apenas 30 s desde el inicio de la irradiación, las tasas disminuyeron y se aproximaron a cero en 30 minutos, a partir de entonces continuaron a tasas muy reducidas durante varios días. Si se aplica luz del azul al mutante *phot1*, las tasas de crecimiento en oscuridad permanecen inalteradas durante los primeros 30 minutos, indicando que la inhibición de la elongación en los primeros 30 minutos está bajo el control de la fototropina. Experimentos similares con los mutantes *cry1*, *cry2* y *phyA* indican que los productos de estos genes controlan las tasas de elongación en momentos posteriores. (Según Parks y col. 2001).

La isomerización de la zeaxantina podría iniciar una cascada que media la apertura estomática estimulada por la luz del azul

Se han caracterizado varias etapas claves de la cadena de transducción de señal para la apertura estomática estimulada por la luz del azul (véase la figura 18.21). El extremo C-terminal de la H^+-ATPasa (véase la figura 6.15) tiene un dominio autoinhibidor que regula la actividad del enzima. Si se elimina este dominio autoinhibidor con una proteasa, la H^+-ATPAsa queda *irreversiblemente activada*. Se cree que el dominio autoinhibidor del extremo C-terminal reduce la actividad del enzima, bloqueando su sitio catalítico. Por el contrario, la fusicoccina parece activar el enzima trasladando el dominio autoinhibidor lejos del sitio catalítico.

Tras irradiación con luz del azul, la H^+-ATPasa muestra una K_m menor para el ATP y una $V_{máx}$ mayor (véase el capítulo 6), indicando que la luz del azul activa la H^+-ATPasa. La activación del enzima implica la fosforilación de residuos de serina y treonina del dominio C-terminal de la H^+-ATPasa (Kinoshita y Shimazaki 1999). El bombeo de protones estimulado por la luz del azul y la apertura estomática se evitan mediante inhibidores de las proteína quinasas, que podrían bloquear la fosforilación de la H^+-ATPasa. Como ocurre con la fusicoccina, la fosforilación del dominio

C-terminal también parece desplazar el dominio autoinhibidor del sitio catalítico del enzima.

Se ha encontrado una **proteína 14-3-3** que se une al extremo C-terminal fosforilado de la H^+-ATPasa en las células guarda, pero no a la forma no fosforilada. La familia de las proteínas 14-3-3 fue descubierta inicialmente en tejido cerebral y se ha visto que sus miembros se encuentran entre las proteínas reguladoras ubicuas en organismos eucariotas. En plantas, las proteínas 14-3-3 regulan la transcripción por unión a activadores del núcleo y regulan enzimas metabólicos como la nitrato reductasa.

Sólo una de las cuatro isoformas de las proteínas 14-3-3 encontrada en las células guarda se une a la H^+-ATPasa, por lo que parece ser una unión específica (Emi y col. 2001). La misma isoforma 14-3-3 se une a la H^+-ATPasa de las células guarda en respuesta a los tratamientos con fusicoccina y luz del azul. La proteína 14-3-3 parece disociarse de la H^+-ATPasa tras la desfosforilación del dominio C-terminal.

Las tasas de bombeo de protones de las células guarda aumentan con las tasas de fluencia de la luz del azul (véase la figura 18.13), y el gradiente electroquímico generado por el bombeo de protones dirige la incorporación de iones a las células guarda, aumentando la presión de turgencia y la apertura estomática mediada por turgencia. Considerándolas juntas, estas etapas constituyen los principales pasos en la transducción de señal que une la activación de una serina/treonina quinasa por la luz del azul con la apertura estomática estimulada por la luz del azul (véase la figura 18.21).

La hipótesis de la zeaxantina postula que la excitación de la zeaxantina en las antenas del cloroplasto de una célula guarda por la luz del azul inicia la cascada de transducción de señal que activa la serina/treonina quinasa del citosol. La isomerización es la reacción fotoquímica predominante de los carotenoides, por lo que la luz del azul podría isomerizar la zeaxantina y el cambio conformacional iniciaría la cascada de transducción de señal.

La luz del verde revierte la apertura estimulada por la luz del azul. Se ha descubierto recientemente que la luz del verde revierte la apertura estomática estimulada por la luz del azul. Los estomas en tiras de epidermis se abren en respuesta a un pulso de luz del azul de 30 s (Figura 18.24), pero no se observa la apertura si el pulso de luz del azul va seguido de un pulso de luz del verde. La apertura se reestablece si el pulso verde va seguido de un segundo pulso de luz del azul, en una respuesta análoga a la reversibilidad del rojo/rojo lejano de las respuestas del fitocromo (Frechilla y col. 2000).

La reversibilidad de la respuesta azul/verde se ha descrito en estomas de varias especies y en el fototropismo del coleóptilo estimulado por luz del azul (véase el **ensayo web 18.4**). La función de la reversión azul/verde del movimiento estomático en condiciones naturales todavía no se ha establecido, pero podría estar relacionada con la percepción de condiciones ambientales como el sol y la sombra.

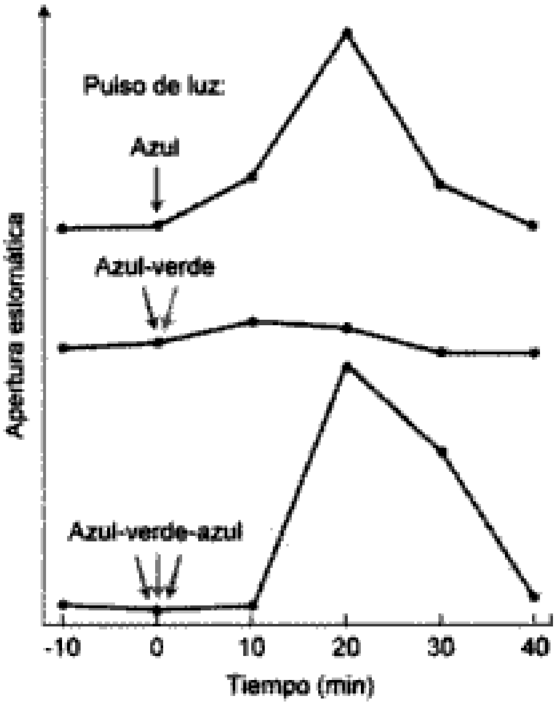


Figura 18.24 Reversibilidad azul/verde de los movimientos estomáticos. Los estomas se abren cuando se aplica un pulso de 30 s de luz del azul (1800 μmol m^{-2} s^{-1}) con un fondo de luz continua del rojo (120 μmol m^{-2} s^{-1}). Un pulso de luz del verde (3600 μmol m^{-2} s^{-1}) bloquea la respuesta al pulso de luz del azul. Se reestableció la apertura estomática por aplicación de un segundo pulso de luz del azul dado después del pulso de luz del verde. (Según Frechilla y col. 2000).

El espectro de acción para la reversión por el verde de la apertura estimulada por la luz del azul tiene un máximo a 540 nm y dos picos menores a 490 y 580 nm. Este espectro de acción descarta la implicación del fitocromo o las clorofilas en la respuesta. Más bien, el espectro de acción es muy similar al espectro de acción de la apertura estomática estimulada por la luz del azul (véase la figura 18.11), pero desplazado hacia el rojo (desplazado hacia longitudes mayores, la franja de longitudes de onda del rojo en el espectro) unos 90 nm.

Estos cambios espectrales hacia el rojo se han observado tras la isomerización de los carotenoides en un entorno de proteínas (Véase el **ensayo Web 18.4**). En vesículas reconstituidas que contienen proteínas de unión de clorofila *a/b* y las xantofilas zeaxantina, violaxantina y neoxantina, los cambios en el espectro de absorción para la reversibilidad azul/verde se han asociado con la isomerización de la zeaxantina.

La reversibilidad azul/verde de los movimientos estomáticos y los cambios en el espectro de acción que se obtienen por la luz del azul y del verde sugieren que un isómero *trans* fisiológicamente inactivo de la zeaxantina es convertido en su isómero *cis* por la luz del azul, y que la isomerización inicia la cadena de transducción de señal. Los datos disponibles sugieren que la luz del verde convierte el isómero *cis* en la forma fisiológicamente inactiva *trans* y por tanto revierte la señal de apertura estimulada por la luz del azul. Los resultados de estudios previos indican que después de un pulso de luz del azul, la forma *cis* revierte lentamente a la forma *trans* en la oscuridad (Iino y col. 1985).

El ciclo de las xantofilas confiere plasticidad a las respuestas estomáticas a la luz

La concentración de zeaxantina en las células guarda varía con la actividad del ciclo de las xantofilas. El enzima que convierte la violaxantina en zeaxantina es una proteína integral de los tilacoides con un pH óptimo de 5,2 (Yamamoto 1979). La acidificación del lumen estimula la formación de la zeaxantina y la alcalinización favorece la formación de la violaxantina.

El pH del lumen depende de los niveles de radiación fotosintéticamente activa que inciden (máxima efectividad a longitudes de onda del azul y del rojo; véase el capítulo 7), y de la tasa de síntesis de ATP, que disipa el gradiente de pH a través de los tilacoides. Así, la actividad fotosintética en los cloroplastos de las células guarda, el pH del lumen, el contenido de zeaxantina, la sensibilidad a la luz del azul y las aperturas estomáticas están fuertemente acopladas.

Algunas de las propiedades únicas de los cloroplastos de las células guarda parecen estar óptimamente adaptados para su función en la transducción de la señal. Comparados con sus equivalentes del mesofilo, los cloroplastos de las células guarda están enriquecidos en el fotosistema II y muestran tasas inusualmente altas en el transporte electrónico y bajas tasas de fijación fotosintética del carbono (Zeiger y col. 2002). Estas propiedades favorecen la acidificación del lumen a bajos flujos fotónicos y explican la formación de la zeaxantina en el cloroplasto de las células guarda a primeras horas del día (véase la figura 18.18).

La regulación del contenido de zeaxantina por el pH del lumen y el fuerte acoplamiento entre el pH del lumen y la actividad del ciclo de Calvin en los cloroplastos de las células guarda (véase la figura 18.21) sugieren que la zeaxantina puede actuar como un sensor de CO_2 en las células guarda (véase el **ensayo web 18.5**).

El destacado progreso alcanzado por los recientes descubrimientos en la biología molecular de las respuestas a la luz del azul ha aumentado nuestro conocimiento sobre la materia. La identificación de criptocromos, fototropina y zeaxantina como posibles fotorreceptores de la luz del azul en las células vegetales ha provocado un gran interés en este aspecto de la fotobiología vegetal. Los trabajos actuales y futuros están dirigidos a cuestiones pendientes de gran importancia, como la secuencia detallada de la cascada de transducción de señal y la localización y composición precisa de las proteinas pigmento implicadas. Las investigaciones en curso aseguran rápidos progresos.

RESUMEN

Las plantas utilizan la luz como fuente de energía y como una señal que proporciona información sobre el entorno. Una gran familia de respuestas a la luz del azul son empleadas para percibir la cantidad y dirección de la luz. Estas señales de la luz del azul son transducidas a procesos eléctricos, metabólicos y genéticos que permiten a las plantas alterar su crecimiento, desarrollo y función para aclimatarse a los cambios en las condiciones ambientales. Las respuestas a la luz del azul incluyen el fototropismo, los movimientos estomáticos, la inhibición de la elongación del hipocotilo, la activación génica, la biosíntesis de pigmentos, el seguimiento del sol por las hojas y los movimientos de los cloroplastos en las células.

Las respuestas específicas de la luz del azul se pueden distinguir de otras respuestas porque tienen una sensibilidad a la luz del azul con un patrón característico de «tres dedos» en la región entre 400 y 500 nm.

La fisiología de las respuestas a la luz del azul varía ampliamente. En el fototropismo, los tallos crecen hacia las fuentes de luz unilateral por un crecimiento asimétrico del lado que está a la sombra. En la inhibición de la elongación del tallo, la percepción de la luz del azul despolariza el potencial de membrana de las células que se están alargando, y la tasa de elongación disminuye rápidamente. En la activación génica, la luz del azul estimula la transcripción y la traducción, conduciendo a la acumulación de productos génicos que son necesarios para la respuesta morfogénica a la luz.

Los movimientos estomáticos estimulados por la luz del azul están dirigidos por los cambios dependientes de la luz del azul en la osmorregulación de las células guarda. La luz del azul estimula una H^+-ATPasa en la membrana plasmática de las células guarda, provocando un bombeo de protones a través de la membrana que genera un gradiente electroquímico que proporciona la fuerza motora necesaria para la incorporación de iones. La luz del azul también estimula la degradación del almidón y la biosíntesis de malato. La acumulación de solutos en las células guarda conduce a la apertura estomática. Las células guarda también utilizan la sacarosa como soluto osmóticamente activo, y la calidad de la luz puede cambiar la actividad de las diferentes rutas osmorreguladoras que modulan los movimientos estomáticos.

Los genes cry1 y *cry2* de *Arabidopsis* están implicados en la inhibición de la elongación del tallo estimulada por la luz del azul, la expansión de los cotiledones, la síntesis de antocianinas, el control de la floración y el establecimiento de los ritmos circadianos. Se ha propuesto que CRY1 y CRY2 sean apoproteínas de proteínas pigmento que contienen flavinas que median la fotorrecepción de la luz del azul.

Los productos génicos cry1 y cry2 tienen secuencias similares a la fotoliasa, pero no tienen actividad fotoliasa. La proteína cry1, y en menor grado cry2, se acumulan en el núcleo y podrían estar implicadas en expresión génica. La proteína cry1 también regula la actividad de los canales aniónicos en la membrana plasmática.

La proteína fototropina tiene una función importante en la regulación del fototropismo. El extremo C-terminal de la fototropina es una serina/treonina quinasa y el extremo N-terminal tiene dos dominios de unión a flavinas. La fototropina se une *in vitro*, a la flavina FMN y se autofosforila en respuesta a la luz del azul. Los mutantes *phot1* y *phot2* son deficientes en fototropismo y en los movimientos de los cloroplastos. El doble mutante *phot1/phot2* no presenta apertura estomática estimulada por la luz del azul.

Se ha implicado al carotenoide cloroplástico zeaxantina en la fotorrecepción de la luz del azul en las células guarda. La apertura estomática estimulada por la luz del azul está bloqueada si se impide la acumulación de zeaxantina en las células guarda por mecanismos genéticos o bioquímicos. La manipulación del contenido de zeaxantina en las células guarda hace posible regular su respuesta a la luz del azul. La cascada de transducción de señal para la respuesta a la luz del azul de las células guarda comprende la fotorrecepción de la luz del azul en los cloroplastos de las células guarda, la transducción de señal de la luz del azul a través de la envoltura del cloroplasto, la activación de la H^+-ATPasa, la generación de una presión de turgencia y la apertura estomática.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

18.1 La osmorregulación en las células guarda y un interruptor metabólico activado por la luz del azul

La luz del azul controla las principales rutas de osmorregulación en células guarda y en algas unicelulares.

18.2 Apuntes históricos sobre la investigación de los fotorreceptores de la luz del azul

Los carotenoides y las flavinas han sido los principales candidatos de fotorreceptores de la luz del azul.

18.3 Comparación de flavinas y carotenoides

Los fotorreceptores flavinas y carotenoides tienen propiedades funcionales diferenciadas.

18.4 Los cloroplastos del coleóptilo

Tanto el coleóptilo como los cloroplastos de las células guarda están especializados en la transducción de señal.

ENSAYOS WEB

18.1 La fotosíntesis en las células guarda

La fotosíntesis en los cloroplastos de las células guarda muestra unas características reguladoras únicas.

18.2 Fototropinas

Las fototropinas regulan varias respuestas a la luz en las plantas.

18.3 La transducción de señal de la inhibición de la elongación del tallo por la luz del azul

La regulación de la tasa de elongación del tallo por la luz del azul tiene una importancia crítica para el desarrollo vegetal.

18.4 La reversibilidad azul/verde de la respuesta de los estomas a la luz del azul

La reversibilidad azul/verde en los movimientos estomáticos es una respuesta fotobiológica destacada.

18.5 La zeaxantina y la percepción del CO_2 en las células guarda

La relación funcional entre la actividad del ciclo de Calvin y el contenido de zeaxantina de las células guarda acopla la luz del azul con la percepción del CO_2 durante los movimientos estomáticos.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Ahmad M. y Cashmore A. R. (1993) *HY4* gene of *A. thaliana* encodes a protein with characteristics of a blue light photoreceptor. *Nature* 366: 162–166.

Ahmad M., Jarillo J. A., Smirnova O. y Cashmore A. R. (1998) Cryptochrome blue light photoreceptors of *Arabidopsis* implicated in phototropism. *Nature* 392: 720–723.

Amodeo G., Srivastava A. y Zeiger E. (1992) Vanadate inhibits blue light–stimulated swelling of *Vicia* guard cell protoplasts. *Plant Physiol.* 100: 1567–1570.

Assmann S. M. (1988) Enhancement of the stomatal response to blue light by red light, reduced intercellular concentrations of carbon dioxide and low vapor pressure differences. *Plant Physiol.* 87: 226–231.

Assmann S. M., Simoncini L. y Schroeder J. I. (1985) Blue light activates electrogenic ion pumping in guard cell protoplasts of *Vicia faba*. *Nature* 318: 285–287.

Briggs W. R. y Christie J. M. (2002) Phototropins 1 and 2: Versatile plant blue-light receptors. *Trends Plant Sci.* 7: 204–210.

Cerda-Olmedo E. y Lipson E. D. (1987) *Phycomyces*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.

Cosgrove D. J. (1994) Photomodulation of growth. En *Photomorphogenesis in Plants*, 2ª ed., R. E. Kendrick y G. H. M. Kronenberg, eds., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 631–658.

Dietrich P., Sanders D. y Hedrich R. (2001) The role of ion channels in light-dependent stomatal opening. *J. Exp. Bot.* 52: 1959–1967.

Emi T., Kinoshita T. y Shimazaki K. (2001) Specific binding of vf14-3-3a isoform to the plasma membrane H^+-ATPase in response to blue light and fusicoccin in guard cells of broad bean. *Plant Physiol.* 125: 1115–1125.

Firn R. D. (1994) Phototropism. En *Photomorphogenesis in Plants*, 2ª ed., R. E. Kendrick y G. H. M. Kronenberg, eds., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 659–681.

Frechilla S., Talbott L. D., Bogomolni R. A. y Zeiger E. (2000) Reversal of blue light-stimulated stomatal opening by green light. *Plant Cell Physiol.* 41: 171–176.

Frechilla S., Zhu J., Talbott L. D. y Zeiger E. (1999) Stomata from npq1, a zeaxanthin-less *Arabidopsis* mutant, lack a specific response to blue light. *Plant Cell Physiol.* 40: 949–954.

Horwitz B. A. (1994) Properties and transduction chains of the UV and blue light photoreceptors. En *Photomorphogenesis in Plants*, 2ª ed., R. E. Kendrick y G. H. M. Kronenberg, eds., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 327–350.

Iino M., Ogawa T. y Zeiger E. (1985) Kinetic properties of the blue light response of stomata. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82: 8019–8023.

Karlsson P. E. (1986) Blue light regulation of stomata in wheat seedlings. II. Action spectrum and search for action dichroism. *Physiol. Plant.* 66: 207–210.

Kinoshita T. y Shimazaki K. (1999) Blue light activates the plasma membrane H+-ATPase by phosphorylation of the C-terminus in stomatal guard cells. *EMBO J.* 18: 5548–5558.

Kinoshita T. y Shimazaki K. (2001) Analysis of the phosphorylation level in guard-cell plasma membrane H^+-ATPase in response to fusicoccin. *Plant Cell Physiol.* 42: 424–432.

Kinoshita T., Doi M., Suetsugu N., Kagawa T., Wada M. y Shimazaki K. (2001) phot1 and phot2 mediate blue light regulation of stomatal opening. *Nature* 414: 656–660.

Lin C. (2000) Plant blue-light receptors. *Trends Plant Sci.* 5: 337–342.

Matters G. L. y Beale S. I. (1995) Blue-light-regulated expression of genes for two early steps of chlorophyll biosynthesis in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Physiol.* 109: 471–479.

Niyogi K. K., Grossman A. R. y Björkman O. (1998) *Arabidopsis* mutants define a central role for the xanthophyll cycle in the regulation of photosynthetic energy conversion. *Plant Cell* 10: 1121–1134.

Outlaw W. H., Jr. (1983) Current concepts on the role of potassium in stomatal movements. *Physiol. Plant.* 59: 302–311.

Parks B. M., Cho M. H. y Spalding E. P. (1998) Two genetically separable phases of growth inhibition induced by blue light in Arabidopsis seedlings. *Plant Physiol.* 118: 609–615.

Parks B. M., Folta K. M. y Spalding E. P. (2001) Photocontrol of stem growth. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 436–440.

Sakai T., Kagawa T., Kasahara M., Swartz T. E., Christie J. M., Briggs W. R., Wada M. y Okada K. (2001) Arabidopsis nph1 and npl1: Blue light receptors that mediate both phototropism and chloroplast relocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 6969–6974.

Schroeder J. I., Allen G. J., Hugouvieux V., Kwak J. M. y Waner D. (2001) Guard cell signal transduction. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 52: 627–658.

Schwartz A. y Zeiger E. (1984) Metabolic energy for stomatal opening. Roles of photophosphorylation and oxidative phosphorylation. *Planta* 161: 129–136.

Senger H. (1984) *Blue Light Effects in Biological Systems*. Springer, Berlin.

Serrano E. E., Zeiger E. y Hagiwara S. (1988) Red light stimulates an electrogenic proton pump in *Vicia* guard cell protoplasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 436–440.

Shimazaki K., Iino M. y Zeiger E. (1986) Blue light–dependent proton extrusion by guard cell protoplasts of *Vicia faba*. *Nature* 319: 324–326.

Spalding E. P. y Cosgrove D. J. (1989) Large membrane depolarization precedes rapid blue-light induced growth inhibition in cucumber. *Planta* 178: 407–410.

Srivastava A. y Zeiger E. (1995a) Guard cell zeaxanthin tracks photosynthetic active radiation and stomatal apertures in *Vicia faba* leaves. *Plant Cell Environ.* 18: 813–817.

Srivastava A. y Zeiger E. (1995b) The inhibitor of zeaxanthin formation dithiothreitol, inhibits blue-light-stimulated stomatal opening in *Vicia faba*. *Planta* 196: 445–449.

Swartz T. E., Corchnoy S. B., Christie J. M., Lewis J. W., Szundi I., Briggs W. R. y Bogomolni R. A. (2001) The photocycle of a flavin-binding domain of the blue light photoreceptor phototropin. *J. Biol. Chem.* 276: 36493–36500.

Talbott L. D. y Zeiger E. (1998) The role of sucrose in guard cell osmoregulation. *J. Exp. Bot*. 49: 329–337.

Talbott L. D., Srivastava A. y Zeiger E. (1996) Stomata from growth-chamber-grown *Vicia faba* have an enhanced sensitivity to CO_2. *Plant Cell Environ.* 19: 1188–1194.

Tallman G., Zhu J., Mawson B. T., Amodeo G., Nouhi Z., Levy K. y Zeiger E. (1997) Induction of CAM in *Mesembryanthemum crystallinum* abolishes the stomatal response to blue light and light-dependent zeaxanthin formation in guard cell chloroplasts. *Plant Cell Physiol.* 38: 236–242.

Thimann K. V. y Curry G. M. (1960) Phototropism and phototaxis. En *Comparative Biochemistry*, Vol. 1, M. Florkin y H. S. Mason, eds., Academic Press, New York, págs. 243–306.

Tsunoyama Y., Morikawa K., Shiina T. y Toyoshima Y. (2002) Blue light specific and differential expression of a plastid sigma factor, Sig5 in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 516: 225–228.

Vogelmann T. C. (1994) Light within the plant. En *Photomorphogenesis in Plants*, 2ª ed., R. E. Kendrick y G. H. M. Kronenberg, eds., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 491–533.

Vogelmann T. C. y Haupt W. (1985) The blue light gradient in unilaterally irradiated maize coleoptiles: Measurements with a fiber optic probe. *Photochem. Photobiol.* 41: 569–576.

Yamamoto H. Y. (1979) Biochemistry of the violaxanthin cycle in higher plants. *Pure Appl. Chem.* 51: 639–648.

Zeiger E. y Hepler P. K. (1977) Light and stomatal function: Blue light stimulates swelling of guard cell protoplasts. *Science* 196: 887–889.

Zeiger E., Talbott L. D., Frechilla S., Srivastava A. y Zhu J. X. (2002) The guard cell chloroplast: A perspective for the twenty-first century. *New Phytol.* 153: 415–424.

Capítulo 19

AUXINA: LA HORMONA DEL CRECIMIENTO

MANTENER LA FORMA Y LA FUNCIÓN de un organismo multicelular no sería posible sin una comunicación eficaz entre las células, los tejidos y los órganos. En las plantas superiores, la regulación y la coordinación del metabolismo, el crecimiento y la morfogénesis suelen depender de señales que van de una parte a otra de la planta. Esta idea fue desarrollada en el siglo XIX por el botánico alemán Julius von Sachs (1832-1897).

Sachs propuso que los mensajeros químicos son los responsables de la formación y el crecimiento de los diferentes órganos vegetales. También sugirió que algunos factores externos, como por ejemplo la gravedad, podrían afectar a la distribución de estas sustancias en la planta. Aunque Sachs no conocía la identidad de estos mensajeros químicos, sus ideas dieron lugar a su posterior descubrimiento.

Muchos de los conceptos actuales sobre la comunicación intercelular en las plantas derivan de estudios similares en animales. En los animales, los mensajeros químicos que median la comunicación intercelular se llaman **hormonas**. Las hormonas interaccionan con proteínas celulares específicas llamadas *receptores*.

La mayoría de las hormonas animales se sintetizan y secretan en una parte del cuerpo y son transportadas, a través de la corriente sanguínea, a los sitios específicos de actuación en otras partes del cuerpo. Las hormonas animales se clasifican en cuatro categorías generales: proteínas, pequeños péptidos, derivados de aminoácidos y esteroides.

Las plantas también producen moléculas de señalización, llamadas *hormonas*, que tienen efectos importantes en el desarrollo a concentraciones tremendamente bajas. Hasta hace muy poco se creía que el desarrollo vegetal estaba regulado únicamente por cinco hormonas: auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno y ácido abscísico. Sin embargo, hay evidencias de la existencia de hormonas esteroides, los brasinosteroides, que tienen un amplio rango de efectos morfológicos sobre el desarrollo vegetal. (Los brasinosteroides como hormonas vegetales se estudian en el **ensayo web 19.1**).

También se ha identificado una gran variedad de moléculas de señalización que participan en la resistencia frente a patógenos y en la defensa contra herbívoros. Entre estas moléculas se incluyen el ácido jasmónico, el ácido salicílico y el polipéptido sistemina (véase el capítulo 13). Así, en plantas, el número y tipo de hormonas y agentes de señalización similares a hormonas sigue aumentando.

La primera hormona vegetal que consideraremos es la auxina. La auxina ocupa un lugar destacado en cualquier discusión sobre hormonas vegetales porque fue la primera hormona del crecimiento descubierta en plantas, mucho antes de que se hubieran realizado los primeros trabajos fisiológicos sobre el mecanismo de expansión celular vegetal en relación a la acción de la auxina.

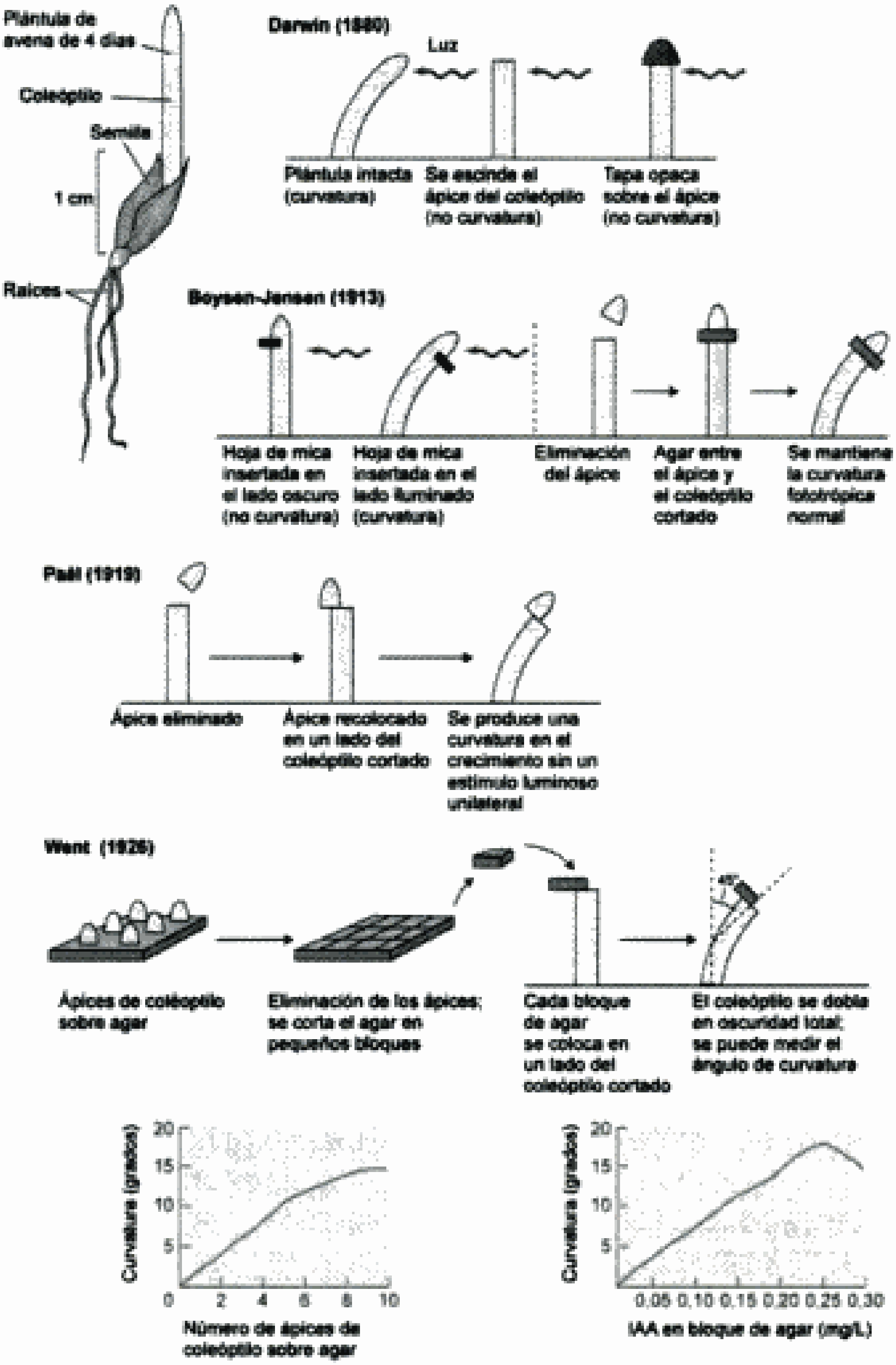
Más aún, la auxina y la citoquinina difieren mucho del resto de hormonas vegetales y agentes de señalización en un aspecto importante: son necesarias para la viabilidad de la planta. Así pues, no se han encontrado mutantes que carezcan de auxinas o de citoquininas porque la mutación que las elimina es letal. Mientras que las otras hormonas parecen actuar como un interruptor que se enciende y se apaga y que regula procesos del desarrollo, las auxinas y las citoquininas parecen ser necesarias a niveles más o menos continuos.

Empezaremos nuestro análisis de las auxinas con una breve historia de su descubrimiento, seguida de una descripción de sus estructuras químicas y los métodos usados para detectarlas en tejidos vegetales. A continuación repasaremos las rutas de biosíntesis de las auxinas y la naturaleza polar de su transporte. Posteriormente revisaremos los diversos procesos del desarrollo controlados por las auxinas, como la elongación del tallo, la dominancia apical, la iniciación radical, el desarrollo del fruto y el crecimiento orientado o *trópico*. Finalmente, examinaremos los mecanismos de crecimiento inducido por auxina a nivel celular y molecular.

EL NACIMIENTO DEL CONCEPTO DE AUXINA

Durante la última parte del siglo XIX, Charles Darwin y su hijo Francis estudiaron los fenómenos de crecimiento vegetal implicados en los tropismos. Uno de estos fenómenos es la curvatura de las plantas hacia la luz. Este fenómeno, que produce un crecimiento asimétrico, se conoce como **fototropismo**. En algunos experimentos los Darwin usaron plántulas de alpiste (*Phalaris canariensis*) que, como muchas otras herbáceas, tiene las hojas más jóvenes dentro de un órgano protector llamado **coleóptilo** (Figura 19.1).

Los coleóptilos son muy sensibles a la luz, especialmente a la luz del azul (véase el capítulo 18). Si se iluminan por un lado con un breve pulso de luz del azul de baja intensidad, en una hora se curvarán (crecerán) hacia la fuente del pulso de luz. Los Darwin descubrieron que el ápice del coleóptilo percibía la luz porque si se cubría el ápice con una lámina, el coleóptilo no se doblaba. Pero la zona de crecimiento


Plántula de avena de 4 días
Coleóptilo
Semilla
1 cm
Raíces
Darwin (1880)
Luz
Plántula intacta (curvatura)
Se escinde el ápice del coleóptilo (no curvatura)
Tapa opaca sobre el ápice (no curvatura)
Boysen-Jensen (1913)
Hoja de mica insertada en el lado oscuro (no curvatura)
Hoja de mica insertada en el lado iluminado (curvatura)
Eliminación del ápice
Agar entre el ápice y el coleóptilo cortado
Se mantiene la curvatura fototrópica normal
Paál (1919)
Ápice eliminado
Ápice recolocado en un lado del coleóptilo cortado
Se produce una curvatura en el crecimiento sin un estímulo luminoso unilateral
Went (1926)
45°
Ápices de coleóptilo sobre agar
Eliminación de los ápices; se corta el agar en pequeños bloques
Cada bloque de agar se coloca en un lado del coleóptilo cortado
El coleóptilo se dobla en oscuridad total; se puede medir el ángulo de curvatura
Curvatura (grados)
20
15
10
5
0
2
4
6
8
10
Número de ápices de coleóptilo sobre agar
Curvatura (grados)
20
15
10
5
0,05 0,10 0,15 0,20 0,25 0,30
IAA en bloque de agar (mg/L)

De los experimentos sobre fototropismo en coleóptilo, Darwin concluyó en 1880 que en el ápice del coleóptilo se produce un estímulo del crecimiento que es transmitido a la zona de crecimiento.

En 1913, P. Boysen-Jensen descubrió que el estímulo del crecimiento pasa a través del agar, pero no a través de barreras impermeables al agua como la mica.

En 1919, A. Paál proporcionó evidencias de que el estímulo promotor del crecimiento producido en el ápice era de naturaleza química.

En 1926, F. W. Went demostró que la sustancia activa promotora del crecimiento podía difundir a un bloque de agar. También diseñó un ensayo de la curvatura del coleóptivo para hacer un análisis cuantitativo de la auxina.

Figura 19.1 Resumen de los primeros experimentos en la investigación de las auxinas.

del coleóptilo que es la responsable de la curvatura hacia la luz, llamada **zona de crecimiento,** está unos milímetros más abajo del ápice.

Así, concluyeron que en el ápice se producía algún tipo de señal de crecimiento que viajaba a la zona de crecimiento y hacía que el lado en sombra creciera más rápidamente que la cara iluminada. Los resultados de estos experimentos fueron publicados en 1881 en un libro titulado *El poder del movimiento en las plantas*.

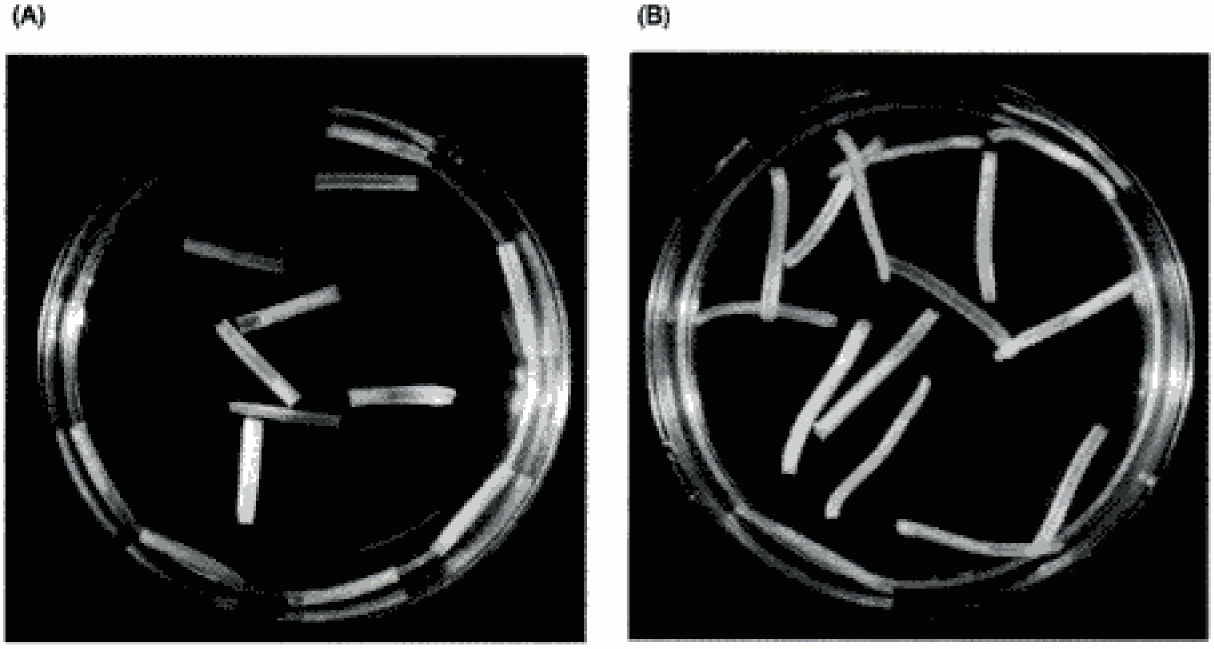


Figura 19.2 La auxina estimula la elongación de las secciones de coleóptilos de avena. Estas secciones de coleóptilo se incubaron durante 18 horas en agua (A) o en auxinas (B). El tejido amarillo dentro del coleóptilo translúcido son las hojas primarias. (Fotos © M. B. Wilkins.) (Véanse las fotografías en color en el CD.)

Después de este descubrimiento, numerosos investigadores realizaron experimentos sobre la naturaleza de los estímulos que provocan el crecimiento en los coleóptilos. Estas investigaciones culminaron con la demostración de Frits Went, en 1926, de la presencia de una sustancia química que promovía el crecimiento en el ápice de los coleóptilos de avena (*Avena sativa*). Si se elimina su ápice, el crecimiento del coleóptilo cesa. En trabajos previos se había intentado aislar e identificar la sustancia química promotora del crecimiento, moliendo los ápices de los coleóptilos y probando la actividad de los extractos. Esta aproximación fracasó porque el tejido molido liberaba sustancias inhibidoras que, en la célula, normalmente se encontraban compartimentalizadas.

La principal aportación de Went fue evitar el molido y permitir que el material difundiera fuera del coleóptilo escindido directamente sobre bloques de agar. Si estos bloques se colocaban asimétricamente en el ápice de un coleóptilo decapitado, podría examinarse su capacidad para provocar la curvatura en ausencia de una fuente de luz unilateral (véase la figura 19.1). Como la sustancia promovía la elongación de las secciones de coleóptilo (Figura 19.2), se la denominó **auxina** que deriva del griego *auxein*, que significa «aumentar» o «crecer».

LA BIOSÍNTESIS Y EL METABOLISMO DE LAS AUXINAS

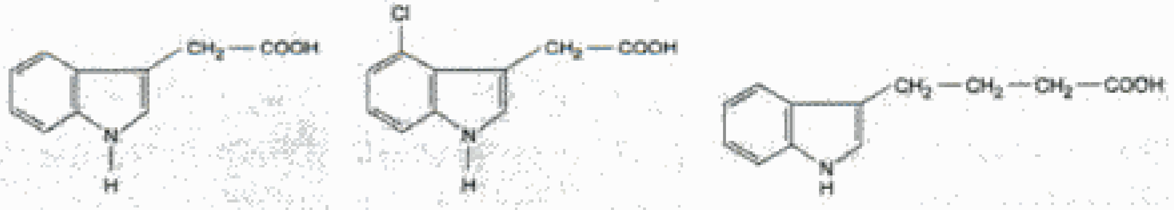
Los estudios de Went con los bloques de agar demostraron de forma inequívoca que el factor que promovía el crecimiento y que difundía desde el ápice del coleóptilo era una sustancia química. El hecho de que se produjera en un lugar específico y fuera transportada en cuestión de minutos al sitio de acción hizo que se la calificara como una verdadera hormona vegetal.

En los años siguientes, se determinó la identidad química de la «sustancia del crecimiento» y debido a su potencial uso agrícola, se probaron otros compuestos químicos análogos. Estas pruebas llevaron al establecimiento de algunas ideas generales sobre las necesidades químicas para la actividad de la auxina. Al mismo tiempo que estos estudios, se continuó aplicando la técnica de la difusión del bloque de agar para estudiar el problema del transporte de la auxina. Los avances tecnológicos, especialmente el uso de isótopos como marcadores, permitieron a los bioquímicos vegetales esclarecer las rutas de biosíntesis y degradación de la auxina.

Nuestra explicación empieza con la naturaleza química de las auxinas y sigue con una descripción de su biosíntesis, transporte y metabolismo. El aumento de la eficacia de los métodos analíticos y la aplicación de la biología molecular han permitido recientemente a los científicos identificar los precursores de las auxinas y estudiar su recambio y distribución en las plantas.

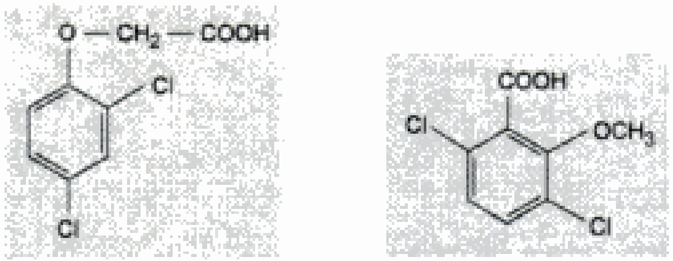
La principal auxina de las plantas superiores es el ácido indol-3-acético

A mediados de 1930 se determinó que la auxina es **ácido 3-indolacético (IAA)**. Más tarde, se descubrieron otras auxinas en las plantas (Figura 19.3), pero el IAA es, con mucho, la más abundante y fisiológicamente la más relevante. Como la estructura del IAA es relativamente sencilla, los laboratorios industriales y de investigación



Ácido indol-3-acético (IAA) **Ácido 4-cloroindol-3-acético (4-Cl-IAA)** **Ácido indol-3-butírico (IBA)**

Figura 19.3 Estructura de algunas auxinas naturales. El ácido indol-3-acético (IAA) se produce en todas las plantas, pero hay otros compuestos relacionados que tienen actividad auxínica. Las plantas de guisante, por ejemplo, contienen el ácido 4-cloroindol-3-acético. La mostaza y el maíz contienen el ácido indol-3-butírico (IBA).



Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)

Ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzoico (dicamba)

Figura 19.4 Estructura de dos auxinas sintéticas. La mayoría de estas auxinas sintéticas se usan como herbicidas en horticultura y agricultura.

fueron capaces enseguida de sintetizar una gran variedad de moléculas con actividad auxínica. Algunas de ellas fueron usadas como herbicidas en horticultura y agricultura (véase la figura 19.4). (Para obtener información adicional sobre auxinas sintéticas, véase el **tema web 19.1**.)

En una de las primeras definiciones de auxina se incluía a todas las sustancias químicas naturales y sintéticas que estimulaban el crecimiento longitudinal en coleóptilos y secciones de tallos. Sin embargo, las auxinas también afectan a otros procesos fisiológicos vegetales además de la elongación. Así, podemos definir las auxinas como compuestos con actividades biológicas similares a la del IAA, como la capacidad de promover la elongación celular en el coleóptilo y las secciones del tallo, la división celular en cultivos de callos en presencia de citoquininas, la formación de raíces adventicias en hojas y tallos cortados y otros fenómenos del desarrollo relacionados con la acción del IAA.

Aunque son químicamente diferentes, una característica común de todas las auxinas es la distancia molecular, de unos 0,5 nm, entre una carga parcial positiva en el anillo aromático y la carga negativa del grupo carboxilo (véase el **tema web 19.2**).

Las auxinas se pueden cuantificar en las muestras biológicas

En función de la información que los investigadores necesiten, se pueden determinar las cantidades y las identidades de las auxinas en las muestras biológicas mediante bioensayos, espectrometría de masas o ensayo inmunoenzimático, que se abrevia con las siglas ELISA (véase el **tema web 19.3**).

Un **bioensayo** es una medida del efecto de una sustancia que se sospecha o se sabe que tiene actividad biológica sobre material vivo. En su trabajo pionero, hace más de 60 años, Went usó coleóptilos de *Avena sativa* (avena) en una técnica llamada **test de curvatura de los coleóptilos de avena** (véase la figura 19.1). La curvatura del coleóptilo se produce porque el aumento de auxina en uno de los lados estimula la elongación celular, mientras que la reducción de la auxina en el otro lado (debida a la ausencia del ápice del coleóptilo) provocaría un descenso en la velocidad de crecimiento, un fenómeno conocido como **crecimiento diferencial**.

Went encontró que se podría estimar la cantidad de auxina de una muestra midiendo el resultado de la curvatura del coleóptilo. Los bioensayos de auxina todavía se utilizan para detectar la actividad auxínica en una muestra El ensayo de curvatura de los coleóptilos de *Avena* nos da una medida sensible de la actividad de la auxina (es efectivo para concentraciones de IAA de 0,02 a 0,2 mg L^{-1}). Otro bioensayo mide los cambios inducidos por la auxina en el crecimiento erecto de coleóptilos de *Avena* que flotan en una solución tampón (véase la figura 19.2). Cualquiera de estos dos ensayos permite determinar la presencia de actividad auxínica en una muestra, pero no se pueden usar para cuantificaciones precisas o para la identificación del compuesto específico.

La espectrometría de masas es el método elegido cuando se desea obtener información sobre la estructura química y la cantidad de IAA. Esta técnica se usa junto con protocolos de separación que implican cromatografía de gases y permite la cuantificación e identificación de auxina en cantidades tan pequeñas como 10^{-12} g (1 picogramo, o pg) de IAA, cantidad de auxina que se ha encontrado en una sección del tallo de guisante o en un grano de maíz. Estas sofisticadas técnicas han permitido a los investigadores analizar detalladamente los precursores de las auxinas, el número de recambio de las auxinas y la distribución de éstas en la planta.

El IAA se sintetiza en meristemos, hojas jóvenes, frutos en desarrollo y semillas

La biosíntesis de IAA en una planta está asociada a los tejidos en rápido crecimiento y división, especialmente brotes. Aunque prácticamente todos los tejidos vegetales parecen ser capaces de producir bajos niveles de IAA, los meristemos apicales de los tallos, las hojas jóvenes, los frutos en desarrollo y las semillas son los lugares principales de síntesis del IAA en las plantas superiores (Ljung y col. en prensa).

En los primordios foliares muy jóvenes de *Arabidopsis*, la auxina se sintetiza en el ápice. Durante el desarrollo de la hoja se produce un desplazamiento gradual del sitio de producción de la auxina en dirección basipétala a lo largo de los márgenes y, más tarde, en la región central de la lámina. El desplazamiento basipétalo en la producción de la auxina se correlaciona estrechamente, y probablemente tiene una relación causal, con la secuencia de maduración basipétala del desarrollo de la hoja y la diferenciación vascular (Aloni 2001).

Por fusión del gen *GUS* (β-glucuronidasa) con un promotor que contiene un elemento de respuesta a la auxina y, transformando hojas de *Arabidopsis* con esta cons-

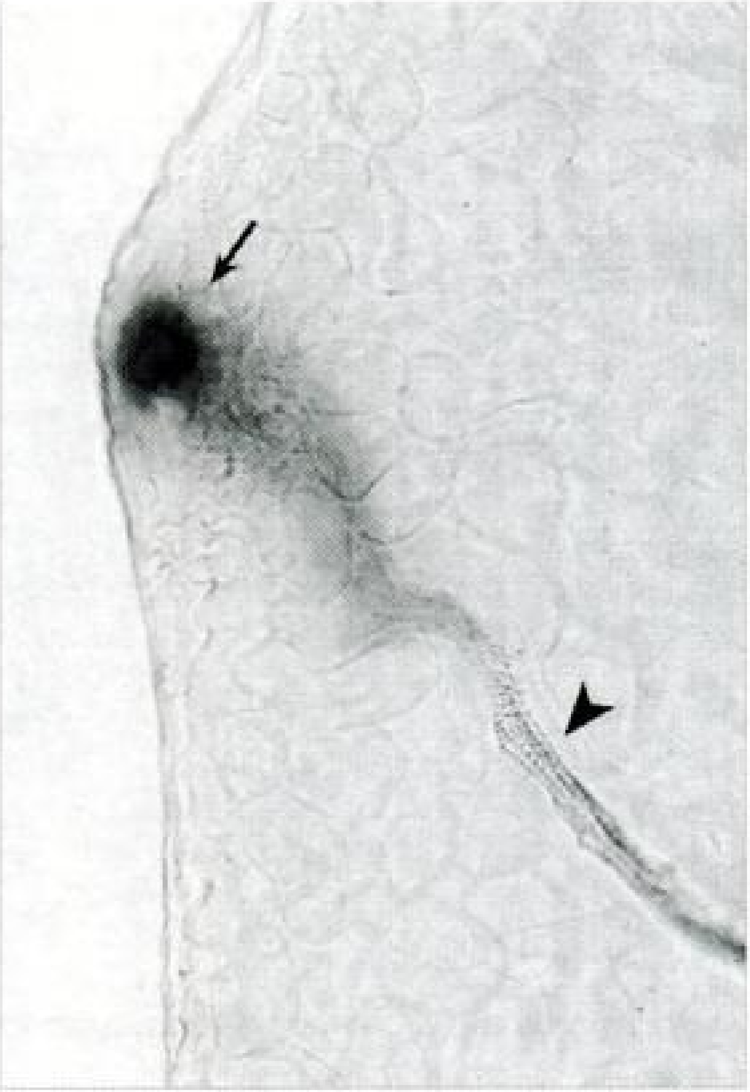


Figura 19.5 Detección de los sitios de síntesis y transporte de auxinas en hojas jóvenes de primordio foliar de *Arabidopsis DRS* usando el gen marcador GUS con un promotor sensible a auxinas. En los primeros estadios de la diferenciación del hidátodo, es evidente la existencia de un centro de elevada síntesis de auxina como una mancha de GUS de color azul oscuro (flecha) en los lóbulos de los márgenes de las hojas aserradas de *Arabidopsis*. Un gradiente de actividad GUS diluida se extiende desde el margen hacia la cadena vascular de diferenciación (punta de flecha), que funciona como un sumidero al que fluye la auxina originada en el lóbulo. (Gentileza de R. Aloni y C. I. Ullrich.) (Véase la fotografía en color en el CD.)

trucción en un plásmido Ti usando *Agrobacterium*, es posible visualizar la distribución de auxina libre en las hojas jóvenes en desarrollo. La expresión de GUS, que se puede detectar histoquímicamente, coincide con los lugares de producción de auxina libre. Mediante esta técnica, recientemente se ha demostrado que la auxina es producida por un grupo de células localizadas en los sitios donde se desarrollan los hidátodos (Figura 19.5).

Los **hidátodos** son modificaciones de tipo glandular de los tejidos fundamentales y vasculares, típicos de los márgenes de las hojas que permiten liberar agua líquida (gutación) a través de los poros de la epidermis en presencia de presión radical (véase el capítulo 4). Como se muestra en la figura 19.5, durante los primeros estadios de la diferenciación de los hidátodos se puede observar claramente la existencia de un centro de elevada síntesis de auxinas gracias a la mancha de color azul oscuro (flecha) que deja el marcador GUS en los lóbulos de las hojas aserradas de *Arabidopsis* (Aloni y col. 2002). Se observa una cadena difusa de actividad GUS que va a los elementos de los vasos que se están diferenciando en la cadena vascular en desarrollo. Esta micrografía captura el proceso de diferenciación celular regulado por auxinas en ese preciso momento.

Volveremos al tema del control de la diferenciación vascular más adelante en este capítulo.

Existen muchas rutas para la biosíntesis del IAA

El IAA está relacionado estructuralmente con el aminoácido triptófano, por lo que los primeros estudios sobre la biosíntesis de auxina se centraron en el triptófano como posible precursor. Sin embargo, ha sido difícil demostrar la incorporación a los tejidos vegetales de triptófano exógeno marcado (como [^{3}H]triptófano) en IAA. No obstante, una gran parte de las evidencias acumuladas muestran que las plantas convierten el triptófano en IAA por varias rutas, que se describen en los párrafos siguientes.

La ruta IPA. La ruta del **ácido indol-3-pirúvico (IPA)** (véase la figura 19.6C) es probablemente la más común de todas las rutas dependientes de triptófano. Implica una reacción de desaminación para formar IPA, seguida de una reacción de descarboxilación para formar el indol-3-acetaldehído (IAld). El indol-3-acetaldehído es entonces oxidado a IAA por una deshidrogenasa específica.

La ruta TAM. La ruta de la **triptamina** (véase la figura 19.6D) es similar a la ruta IPA, excepto en que el orden de las reacciones de desaminación y descarboxilación es el contrario y los enzimas implicados son diferentes. Las especies que no utilizan la ruta IPA tienen la ruta TAM y se conoce al menos al menos un caso (tomate) en el que parece que coexisten ambas rutas, IPA y TAM (Nonhebel y col. 1993).

La ruta IAN. En la ruta del **indol-3-acetonitrilo (IAN)** (véase la figura 19.6B), el triptófano es convertido primero en indol-3-acetaldoxima y éste en indol-3-acetonitrilo. El enzima que convierte IAN en IAA se llama *nitrilasa*. La ruta IAN parece ser importante sólo en tres familias de plantas: Brasicáceas (familia de la mostaza), Poáceas (familia de herbáceas) y Musáceas (familia de la banana). Sin embargo, recientemente se han identificado genes similares al de la nitrilasa en las cucurbitáce-

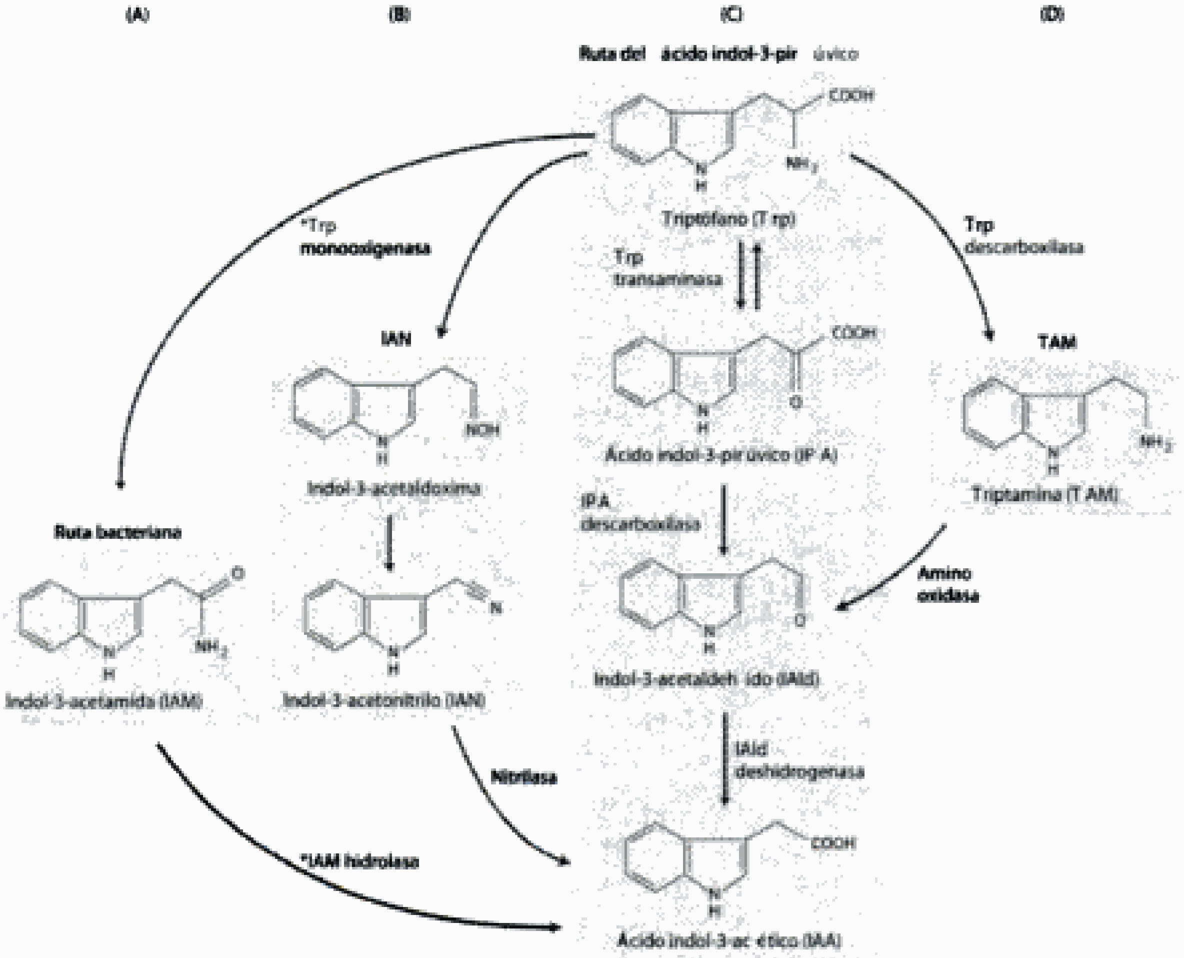

(A)
(B)
(C)
(D)
Ruta del ácido indol-3-pirúvico
COOH
NH2
N
H
Triptófano (Trp)
*Trp
monooxigenasa
Trp
transaminasa
Trp
descarboxilasa
IAN
NOH
Indol-3-acetaldoxima
COOH
O
Ácido indol-3-pirúvico (IPA)
TAM
NH2
Triptamina (TAM)
IPA
descarboxilasa
Ruta bacteriana
O
NH2
Indol-3-acetamida (IAM)
N
Indol-3-acetonitrilo (IAN)
Amino
oxidasa
O
Indol-3-acetaldehído (IAld)
IAld
deshidrogenasa
Nitrilasa
*IAM hidrolasa
COOH
Ácido indol-3-acético (IAA)

Figura 19.6 Rutas biosintéticas del IAA dependientes de triptófano en plantas y bacterias. Los enzimas que están presentes sólo en bacterias se señalan con un asterisco. (Según Bartel 1997.)

as (familia de la calabaza), solanáceas (familia del tabaco), fabáceas (legumbres) y rosáceas (familia de la rosa).

Se han clonado cuatro genes (*NIT1* a *NIT4*) que codifican los enzimas *nitrilasas* de *Arabidopsis*. Cuando se expresó *NIT2* en plantas transgénicas de tabaco, las plantas resultantes adquirieron la capacidad de responder al IAN como una auxina, por hidrólisis de éste para dar IAA (Schmidt y col. 1996).

Existe otra ruta biosintética dependiente de triptófano que usa el **indol-3-acetamida (IAM)** como un intermediario (véase la figura 19.6A) y que se encuentra en bacterias patógenas, como *Pseudomonas savastoni* y *Agrobacterium tumefaciens*. Esta ruta utiliza dos enzimas, la triptófano monooxigenasa y la IAM hidrolasa. Con frecuencia, las auxinas producidas por estas bacterias con frecuencia elicitan cambios morfológicos en sus plantas huésped.

Además de las rutas dependientes del triptófano, estudios genéticos recientes han proporcionado pruebas de que la síntesis de IAA se produce a través de una o más rutas independientes de triptófano. La existencia de múltiples rutas de biosíntesis de IAA hace casi imposible que las plantas se queden sin auxina y es probablemente un reflejo del carácter y función esencial de esta hormona en el desarrollo vegetal.

El IAA también se puede sintetizar a partir del indol-3-glicerol fosfato

Aunque durante mucho tiempo se ha sospechado la existencia de rutas de biosíntesis del IAA independientes del triptófano debido a los bajos niveles de conversión de triptófano marcado radiactivamente a IAA, tales rutas no pudieron ser confirmadas y definidas hasta que se contó con métodos de aproximación genética. Quizás el más interesante de estos estudios es el que implica al mutante de maíz *orange pericarp (or*p, del inglés *o*range *p*ericarp, pericarpo naranja) (Figura 19.7), en el que las dos subunidades del enzima triptófano sintasa son inactivas (Figura 19.8). El mutante *orp* es un auxótrofo estricto de triptófano, es decir, necesita triptófano exógeno para sobrevivir. Sin embargo, ni las plántulas *orp* ni las del tipo silvestre pueden convertir el triptófano en IAA, ni siquiera cuando se aporta suficiente triptófano a las mutantes como para invertir los efectos letales de la mutación.

A pesar del bloqueo de la biosíntesis a partir de triptófano, el mutante *orp* contiene cantidades de IAA 50 veces mayores que las del tipo silvestre (Wright y col. 1991). Cuando se suministró [^{15}N]antranilato (véase la figura 19.8) a las plántulas *orp*, se detectó el marcaje en el IAA, pero no en el triptófano. Estos resultados proporcionaron la mejor evidencia experimental de la existencia de una ruta de biosíntesis de IAA independiente del triptófano.

Estudios posteriores establecieron que el punto de ramificación de la biosíntesis del IAA es el indol o su precursor, el indol-3-glicerol fosfato (véase la figura 19.8).

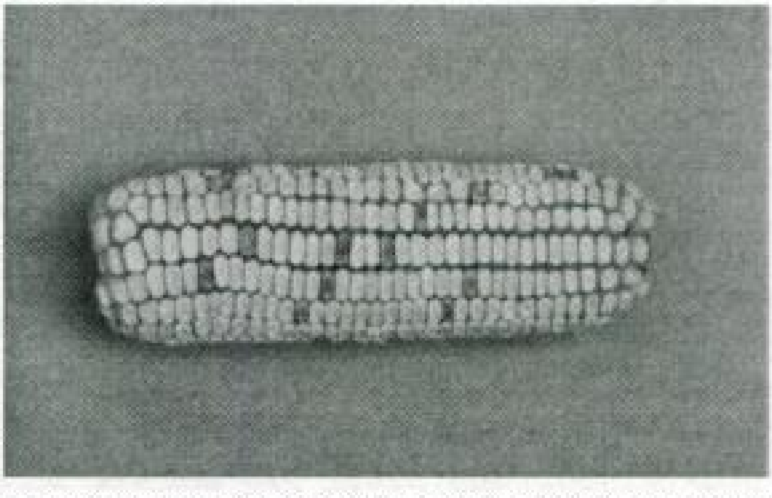


Figura 19.7 El mutante *orange pericap* (*orp*) de maíz ha perdido las dos subunidades de la triptófano sintasa. En consecuencia, el pericarpo que rodea cada grano acumula glicósidos de ácido antranílico e indol. El color naranja es debido al exceso de indol. (Gentileza de Jerry D. Cohen.)

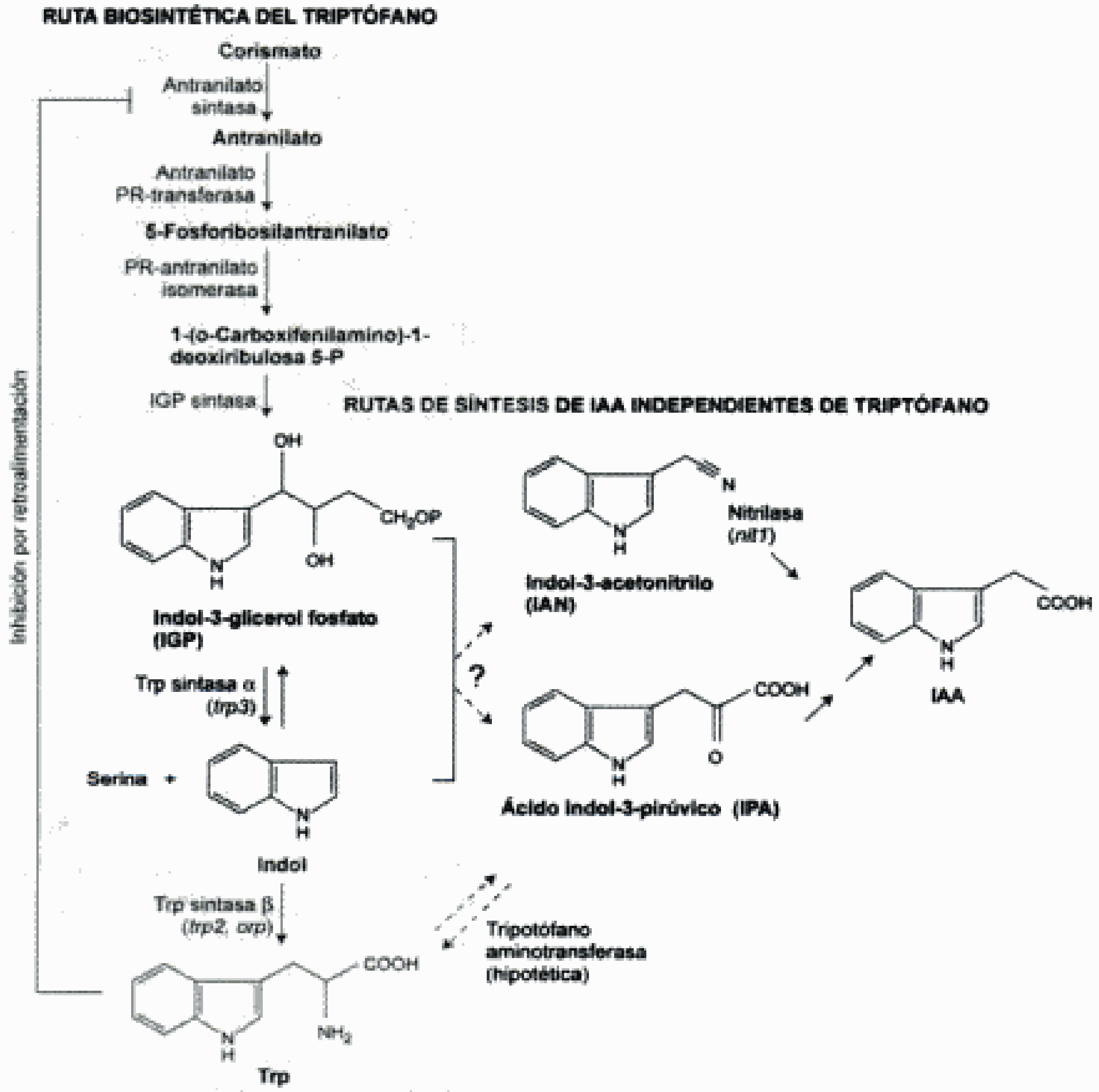

RUTA BIOSINTÉTICA DEL TRIPTÓFANO
Corismato
Antranilato sintasa
Antranilato
Antranilato PR-transferasa
5-Fosforibosilantranilato
PR-antranilato isomerasa
1-(o-Carboxifenilamino)-1-deoxiribulosa 5-P
IGP sintasa
RUTAS DE SÍNTESIS DE IAA INDEPENDIENTES DE TRIPTÓFANO
OH
CH₂OP
OH
N
H
Indol-3-glicerol fosfato (IGP)
Trp sintasa α (trp3)
Serina +
Indol
Trp sintasa β (trp2, trp)
COOH
NH₂
Trp
Inhibición por retroalimentación
?
N
Nitrilasa (nit1)
Indol-3-acetonitrilo (IAN)
COOH
O
Ácido indol-3-pirúvico (IPA)
COOH
IAA
Tripotófano aminotransferasa (hipotética)

Figura 19.8 Rutas de biosíntesis de IAA independientes de triptófano en plantas. A la izquierda se muestra la ruta biosintética del triptófano (Trp). Los mutantes explicados en el tema web 19.4 se indican entre paréntesis. El precursor que supone el punto de ramificación de la biosíntesis independiente de triptófano es incierto (indol-3-glicerol fosfato o indol) e IAN e IPA son dos posibles intermediarios. pR, fosforibosil. (Según Bartel 1997.)

El IAN y el IPA son posibles intermedios, pero todavía no se ha identificado el precursor inmediato del IAA en la ruta independiente de triptófano.

El descubrimiento de la ruta independiente de triptófano ha alterado drásticamente la visión de la biosíntesis del IAA, pero se conoce muy poco sobre la importancia relativa de ambas dos rutas (la dependiente y la independiente de triptófano). En varias plantas se ha visto que el tipo de ruta utilizada para la biosíntesis del IAA varía según el tejido y los diferentes estadios del desarrollo. Así, por ejemplo, durante la embriogénesis en zanahoria, en las primeras etapas del desarrollo la ruta dependiente de triptófano es importante, mientras que la ruta independiente de triptófano es la principal después del establecimiento del eje radical-apical. (Para saber más de la biosíntesis de IAA independiente de triptófano, consulte el **tema web 19.4**).

La mayor parte del IAA en la planta está unida covalentemente

Aunque el IAA libre es la forma de la hormona biológicamente activa, la gran mayoría de las auxinas se encuentran en las plantas unidas covalentemente. Estas auxinas conjugadas o «ligadas» se han identificado en todas las plantas superiores y se consideran hormonalmente inactivas.

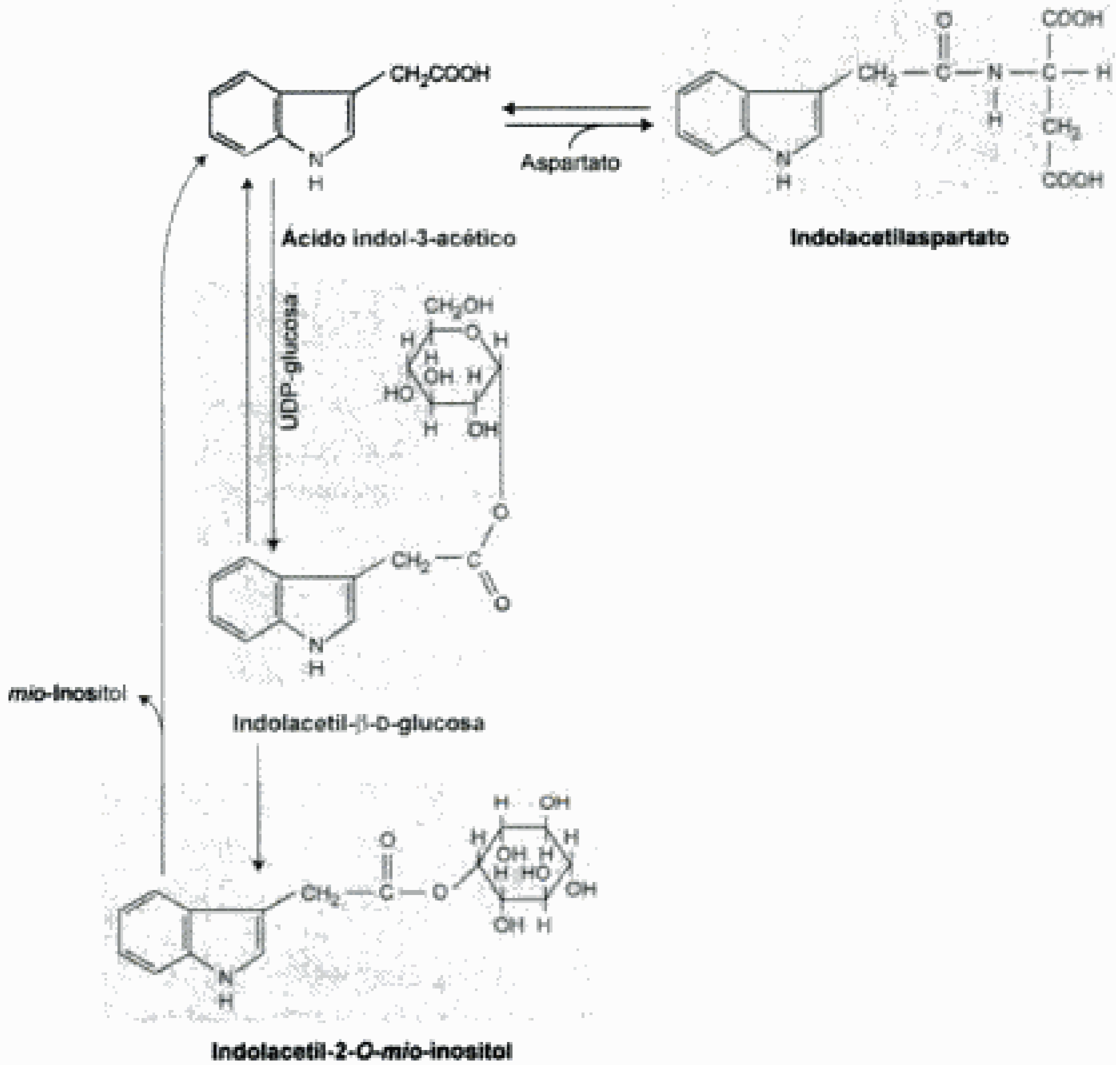

CH₂COOH
Aspartato
Ácido indol-3-acético
Indolacetilaspartato
UDP-glucosa
Indolacetil-β-D-glucosa
mio-Inositol
Indolacetil-2-*O*-*mio*-inositol

Figura 19.9 Estructuras y rutas metabólicas propuestas para las auxinas ligadas. El diagrama muestra las estructuras de varios conjugados de IAA y rutas metabólicas propuestas implicadas en su síntesis y degradación. Las flechas simples indican rutas irreversibles; las dobles flechas, rutas reversibles.

El IAA se ha encontrado conjugado con compuestos de alto y de bajo peso molecular.

- Las auxinas conjugadas con compuestos de bajo peso molecular son los ésteres de IAA con glucosa o *mio*-inositol y los conjugados con amidas como el IAA-N-aspartato (Figura 19.9).
- Los conjugados de IAA con compuestos de alto peso molecular son el IAA-glucano (7–50 unidades de glucosa unidas al IAA) y las IAA-glicoproteínas encontradas en las semillas de cereales.

Los compuestos a los que se conjugan las auxinas y la extensión de la conjugación depende de los enzimas específicos de conjugación. La reacción mejor estudiada es la conjugación del IAA a la glucosa en *Zea mays*.

Las concentraciones más altas de auxina libre en plantas vivas se han encontrado en meristemos apical caulinar y en las hojas jóvenes, dado que éstos son los centros principales de síntesis de auxina. Sin embargo, las auxinas están ampliamente distribuidas por toda la planta. De hecho, el metabolismo de las auxinas conjugadas puede ser incluso un factor importante en la regulación de los niveles de auxina libre. Por ejemplo, durante la germinación de las semillas de *Zea mays*, el IAA-*mio*-inositol es transportado desde el endospermo al coleóptilo a través del floema. Se cree que al menos una parte del IAA libre producido en los ápices de los coleóptilos de *Zea mays* deriva de la hidrólisis del IAA-*mio*-inositol.

Por otra parte, se ha comprobado que los estímulos ambientales como la luz y la gravedad influyen en la velocidad de conjugación de la auxina (eliminación de la auxina libre) y en su liberación (hidrólisis de la auxina conjugada). Además, la formación de auxina conjugada puede tener otras funciones, como el almacenamiento y la protección frente a la degradación oxidativa.

El IAA es degradado por múltiples rutas

Al igual que en la biosíntesis de IAA, la ruptura enzimática (oxidación) de IAA puede implicar más de una ruta. Durante algún tiempo se creyó que los enzimas peroxidasas eran los principales responsables de la oxidación del IAA, debido sobre todo a que estos enzimas están presentes en todos los tejidos de las plantas superiores y a que su capacidad para degradar IAA se puede demostrar *in vitro* (Figura 19.10A). Sin embargo, el significado fisiológico de la ruta peroxidasa no está claro. Por ejemplo, no se han observado cambios en los niveles de IAA en plantas transgénicas que tienen aumentada o reducida diez veces la actividad peroxidasa (Normanly y col. 1995).

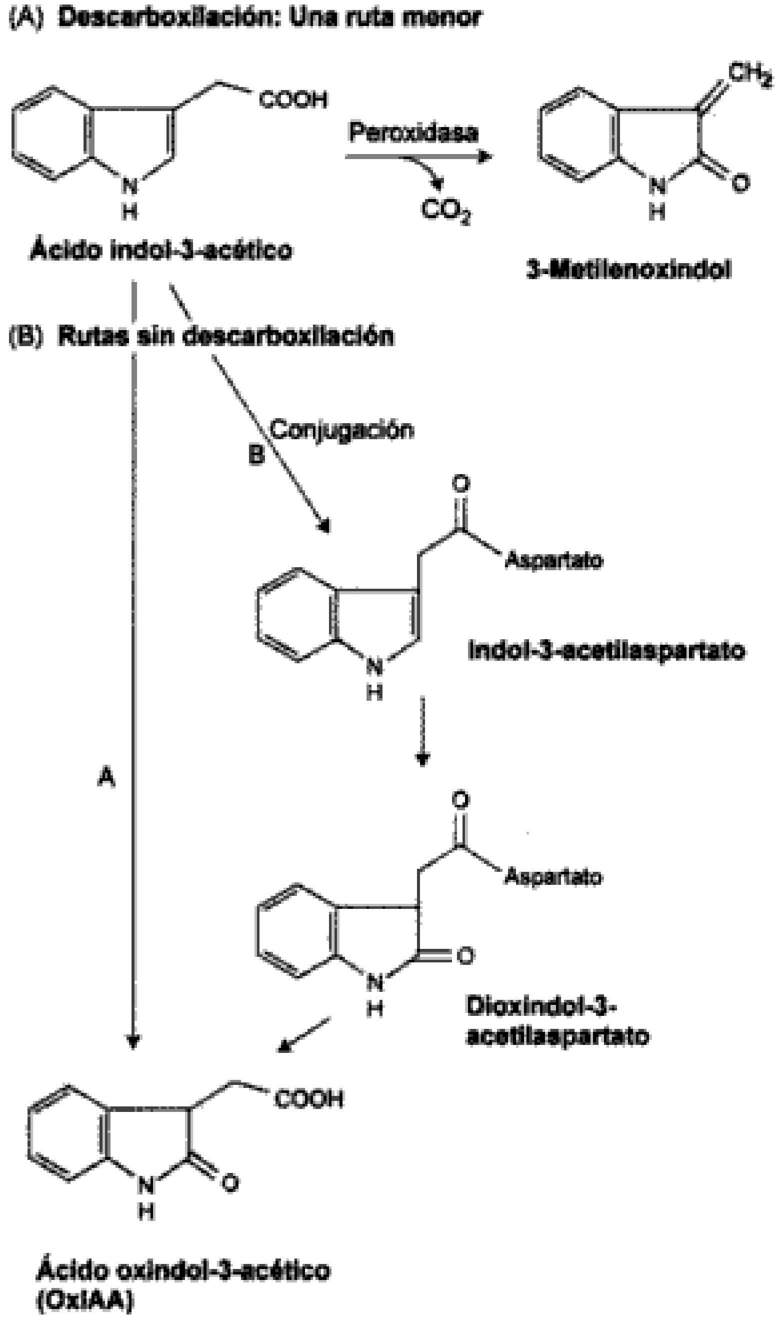

(A) Descarboxilación: Una ruta menor
COOH
Peroxidasa
CO_2
CH_2
N
H
O
Ácido indol-3-acético
3-Metilenoxindol
(B) Rutas sin descarboxilación
Conjugación
B
A
Aspartato
Indol-3-acetilaspartato
Dioxindol-3-acetilaspartato
Ácido oxindol-3-acético (OxIAA)

Figura 19.10 Biodegradación del IAA. (A) La ruta peroxidasa (ruta de descarboxilación) tiene una participación relativamente minoritaria. (B) Las dos rutas sin descarboxilación de la degradación oxidativa del IAA, A y B, son las rutas metabólicas más comunes.

Según datos obtenidos con marcajes isotópicos y por identificación de metabolitos, hay otras dos rutas oxidativas probablemente más implicadas en la degradación controlada de IAA (véase la figura 19.10B). El producto final de estas rutas es el ácido oxindol-3-acético (OxIAA), un compuesto que se produce de forma natural en el endospermo y en los tejidos de los brotes de *Zea* mays. En una ruta, el IAA es oxidado sin descarboxilación a OxIAA. En otra ruta, el conjugado IAA-aspartato es oxidado en primer lugar al intermediario dioxindol-3-acetilaspartato y luego a OxIAA.

In vitro, el IAA se oxida no enzimáticamente cuando se expone a luz muy intensa y su fotodestrucción puede ser promovida por pigmentos vegetales como la riboflavina. Pero la función *in vivo* de la ruta de fotooxidación, si existe, se presume poco importante, aunque se han aislado en plantas los productos de fotooxidación de la auxina.

Existen dos orgánulos de acumulación de IAA en la célula: el citosol y los cloroplastos

La distribución de IAA en la célula parece estar regulada por el pH. Como el IAA$^-$ no puede atravesar las membranas por sí mismo, mientras que el IAAH se difunde rápidamente a través de ellas, la auxina tiende a acumularse en los compartimentos más alcalinos de la célula.

Se ha estudiado la distribución del IAA y su metabolismo en células de tabaco y se ha visto que, aproximadamente un tercio del IAA se encuentra en los cloroplastos y el resto está en el citosol, mientras que el IAA conjugado se localiza exclusivamente en el citosol. El IAA del citosol es metabolizado bien por conjugación o bien por catabolismo sin descarboxilación (véase la figura 19.10). En los cloroplastos, el IAA está protegido de estos procesos, pero está regulado por la cantidad de IAA citosólico, con el que está en equilibrio (Sitbon y col. 1993).

Los factores que regulan la concentración en estado estacionario de auxina libre en las células vegetales están resumidos con un diagrama en el **tema web 19.5**.

EL TRANSPORTE DE AUXINAS

Los ejes principales de tallos y raíces, junto con sus ramificaciones, muestran una polaridad estructural ápice-base que tiene su origen en la polaridad del transporte de auxinas. Poco después de que Went desarrollara el test de curvatura del coleóptilo se descubrió que el IAA se mueve principalmente desde el ápice a la base (*basipétalamente*) en secciones aisladas de coleóptilos de avena. Este tipo de transporte unidireccional se denomina con frecuencia **transporte polar**. Las auxinas son las únicas hormonas de crecimiento vegetales que se transportan polarmente.

Como el ápice caulinar es la principal fuente de auxinas de toda la planta, durante mucho tiempo se ha creído que el transporte polar de las auxinas era la causa principal del gradiente que se extendía desde el ápice caulinar al ápice de la raíz. El gradiente longitudinal de auxinas desde el tallo a la raíz afecta a varios procesos del desarrollo, como son la elongación del tallo, la dominancia apical, la reparación de heridas y la senescencia de las hojas.

Recientemente se ha encontrado que una cantidad importante del transporte auxínico se produce también por el floema y que el floema es, probablemente, la principal ruta por la que la auxina es transportada acropétalamente (es decir, hacia el ápice) en la raíz. Por tanto, hay más de una ruta responsable de la distribución de las auxinas en la planta.

El transporte polar necesita energía y es independiente de la gravedad

Para estudiar el transporte de IAA, los investigadores han utilizado el *método de las bloques de agar dadores-receptores* (Figura 19.11): se coloca un bloque de agar con auxina marcada con un radioisótopo (bloque dador) en el extremo de un segmento de tejido y el bloque receptor en el otro extremo del tejido. El movimiento de la auxina a lo largo del tiempo se puede determinar midiendo la radiactividad en la placa receptora.

A partir de muchos estudios de este tipo, se identificaron las propiedades generales del transporte polar del IAA. Los tejidos difieren entre sí en el grado de polaridad del transporte de IAA. Así, en coleóptilos, tallos vegetativos y hojas de pecíolos predomina el transporte basipétalo. El transporte polar no se ve afectado por la orien-

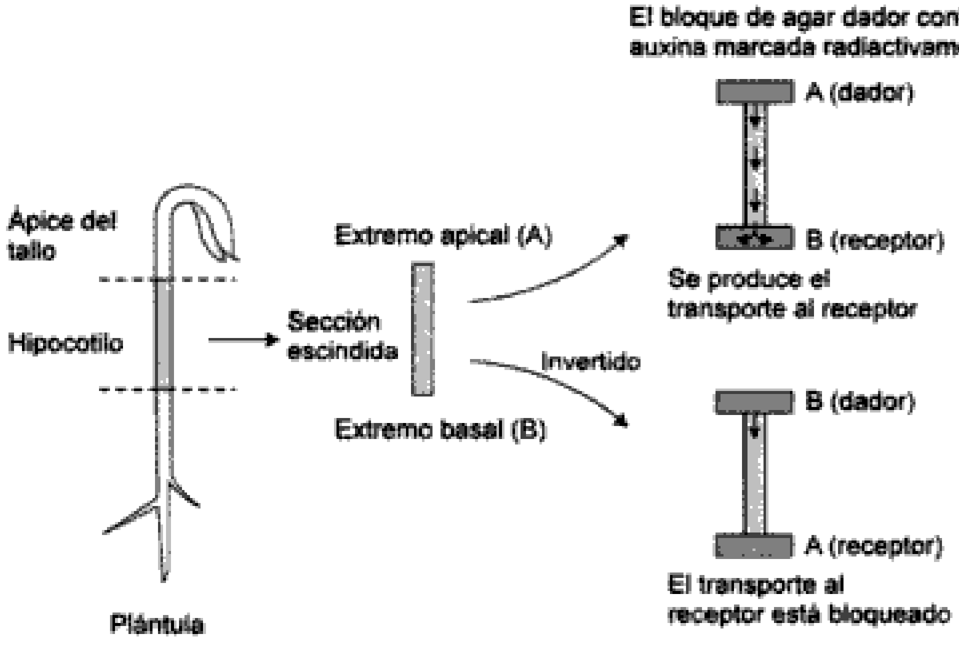

El bloque de agar dador contiene auxina marcada radiactivamente
A (dador)
Ápice del tallo
Extremo apical (A)
B (receptor)
Se produce el transporte al receptor
Hipocotilo
Sección escindida
Invertido
B (dador)
Extremo basal (B)
A (receptor)
El transporte al receptor está bloqueado
Plántula

Figura 19.11 El método estándar de medición del transporte polar de auxinas. La polaridad del transporte es independiente de la orientación con respecto a la gravedad.

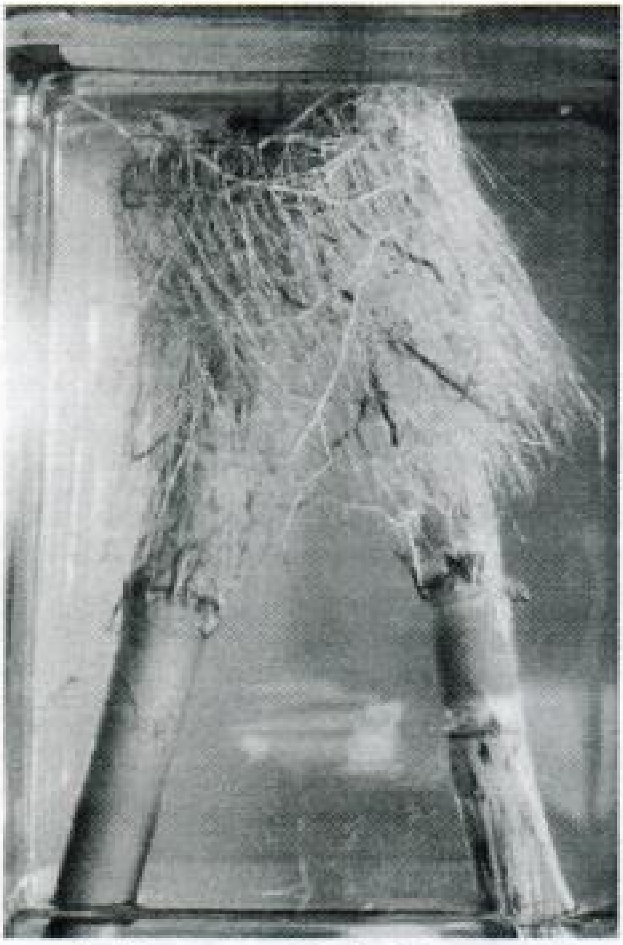


Figura 19.12 Las raíces crecen desde los extremos basales de estas secciones de bambú, incluso cuando su orientación está invertida. Las raíces se forman en el extremo basal debido a que el transporte polar de las auxinas en el tallo es independiente de la gravedad. (Foto © M. B. Wilkins.)

tación del tejido (al menos en cortos períodos de tiempo), de manera que es independiente de la gravedad.

En la figura 19.12 se puede observar una demostración sencilla de que la gravedad no afecta al transporte polar. Cuando se colocan tallos cortados (en este caso de bambú) en una cámara de humedad, las raíces adventicias siempre se forman en el extremo basal de las secciones cortadas, incluso cuando se invierte la orientación de éstas. Puesto que la diferenciación radical se ve estimulada por un aumento en la concentración de auxinas, éstas deben ser transportadas basipétalamente en el tallo, incluso cuando la sección cortada está orientada al revés.

El transporte polar se produce mediante una comunicación célula a célula, más que a través del simplasto. Es decir, las auxinas salen de la célula a través de la membrana plasmática, se difunden a través de la lámina media y entran en la célula de abajo a través de su membrana plasmática. La pérdida de auxina de las células se denomina *salida de auxina*; la entrada de auxina a las células se llama *incorporación de auxina*. El proceso global necesita energía metabólica, como muestra la sensibilidad del transporte polar a la falta de O_2 e inhibidores metabólicos.

La velocidad del transporte polar de auxina es de 5 a 20 cm h^{-1}, mucho más rápida que la velocidad de difusión (véase el **tema web 3.2**), pero más lenta que la velocidad de transporte a través del floema (véase el capítulo 10). Como apuntamos anteriormente, el transporte polar es específico de las auxinas activas, ya sean naturales o sintéticas. Ni los análogos inactivos de la auxina ni los metabolitos auxínicos son transportados polarmente, lo que sugiere que el transporte polar implica proteínas transportadoras específicas en la membrana plasmática que reconocen la hormona y sus análogos activos.

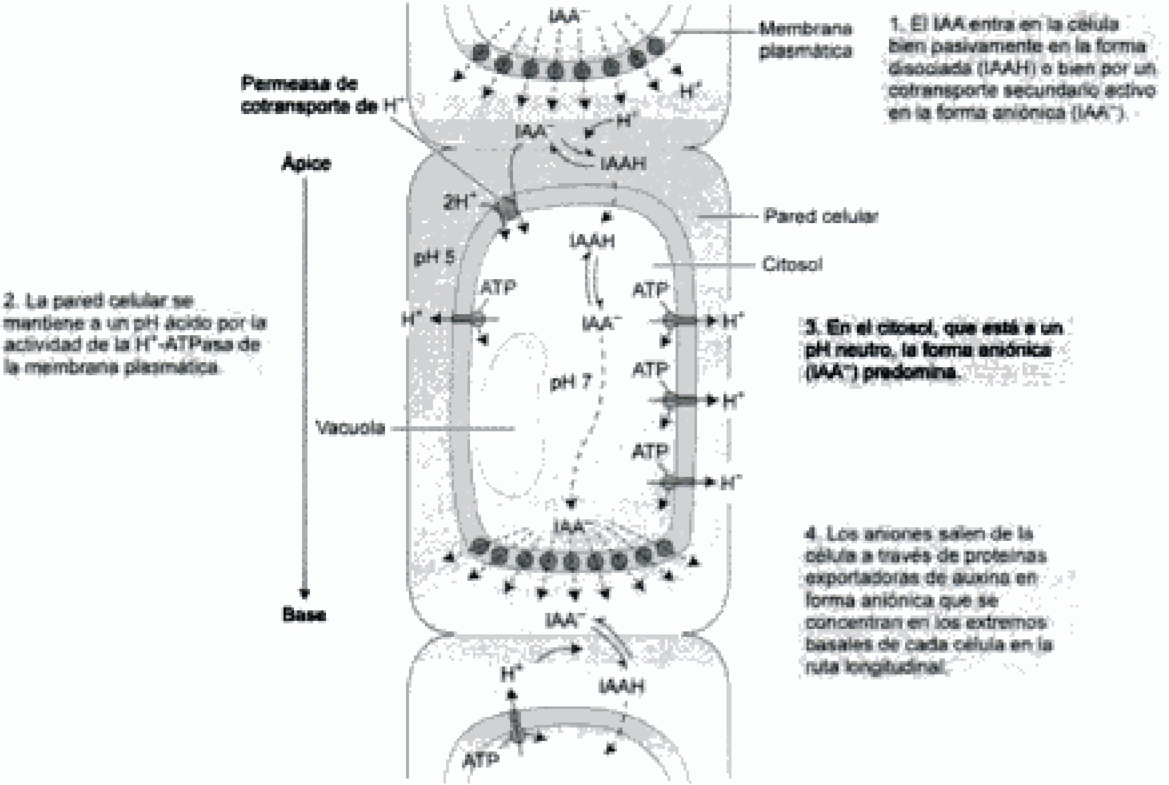
El principal sitio de transporte polar basipétalo de auxinas en tallos y hojas es el tejido parenquimático vascular. Los coleóptilos parecen ser la excepción, ya que el transporte polar basipétalo se da principalmente en los tejidos no vasculares. El transporte polar acropétalo en la raíz está asociado específicamente al xilema parenquimático del cilindro vascular (Palme y Gälweiler 1999). Sin embargo, como veremos más adelante en este capítulo, la mayor parte de la auxina que alcanza el ápice radical es transportada a través del floema.

Se ha demostrado el transporte basipétalo de una pequeña cantidad de auxina desde el ápice radical. En las raíces de maíz, por ejemplo, el IAA marcado radiactivamente aplicado al ápice de la raíz es transportado basipétalamente entre 2 y 8 mm (Young y Evans 1996). El transporte basipétalo de la auxina en la raíz se produce en los tejidos epidérmicos y corticales y, como veremos, tiene un papel fundamental en el gravitropismo.

Se ha propuesto un modelo quimiosmótico para explicar el transporte polar

El descubrimiento del mecanismo quimiosmótico del transporte de solutos a finales de 1960 (véase el capítulo 6) dio lugar a su aplicación al transporte polar de auxina. Según el **modelo quimiosmótico** del transporte polar del IAA actualmente aceptado, la absorción de auxina está dirigida por una fuerza protón motriz ($\Delta E + \Delta pH$) a través de la membrana plasmática, mientras que la salida de la auxina está dirigida por el potencial de membrana, ΔE. (La fuerza protón motriz se describe con más detalle en el **tema web 6.3** y en el capítulo 7.)

Una característica crucial del modelo de transporte polar es que las proteínas transportadoras de la salida de la auxina están localizadas en los extremos basales de las células conductoras (Figura 19.13). A continuación se exponen una a una las pruebas que apoyan cada uno de las etapas de este modelo.



1. El IAA entra en la célula bien pasivamente en la forma disociada (IAAH) o bien por un cotransporte secundario activo en la forma aniónica (IAA$^-$).

2. La pared celular se mantiene a un pH ácido por la actividad de la H$^+$-ATPasa de la membrana plasmática.

3. En el citosol, que está a un pH neutro, la forma aniónica (IAA$^-$) predomina.

4. Los aniones salen de la célula a través de proteínas exportadoras de auxina en forma aniónica que se concentran en los extremos basales de cada célula en la ruta longitudinal.

Figura 19.13 El modelo quimiosmótico para el transporte polar de auxinas. Se ilustra una célula en una columna de células transportadoras de auxina. (Según Jacobs y Gilbert 1983.)

La incorporación de auxinas. La primera etapa en el transporte polar es la entrada de auxinas. De acuerdo con el modelo, las auxinas entran en la célula vegetal desde cualquier punto por dos mecanismos:

1. La difusión pasiva de la forma protonada (IAAH) a través de la bicapa lipídica;
2. El transporte activo secundario de la forma disociada (IAA$^-$) mediante un transportador simporte 2H$^+$-IAA$^-$.

La doble ruta de incorporación de auxinas es debida a que la permeabilidad pasiva de la membrana frente a las auxinas depende mucho del pH apoplástico.

La forma no disociada del ácido indol-3-acético, en la que el grupo carboxilo está protonado, es lipofílica y difunde rápidamente a través de las bicapas lipídicas. Por el contrario, la forma disociada está cargada negativamente y no puede cruzar la membrana si no es unida a una proteína. Como la H$^+$-ATPasa de la membrana plasmática suele mantener el pH de la solución de la pared celular alrededor de 5, cerca de la mitad de las auxinas (pK_a = 4,75) en el apoplasto estará en la forma no disociada IAAH y difundirán pasivamente a favor de gradiente a través de la membrana plasmática. Las evidencias experimentales de que la incorporación de auxina es dependiente del pH proceden de la demostración de que el IAA incorporado en las células vegetales aumenta a medida que disminuye el pH celular desde valores neutros a ácidos.

Se ha demostrado que hay un mecanismo secundario de incorporación activa mediada por transportadores, saturable y específico para auxinas activas (Lomax 1986). Se realizaron experimentos en los que se manipularon artificialmente los valores de ΔE y ΔpH en vesículas de membrana aisladas de calabacín (*Cucúrbita pepo*), y se observó que la incorporación de auxina radiactiva aumentaba en presencia de un gradiente de pH, al igual que sucedía con la incorporación pasiva, pero también cuando el interior de la vesícula estaba cargado negativamente respecto al exterior.

Estos y otros experimentos sugieren que existe un cotransporte simporte de H^+-IAA^- en el que se intercambian dos protones por cada anión de auxina. Este transporte activo secundario de auxina permite aumentar la acumulación de auxina más que la simple difusión pasiva porque está dirigido por la fuerza protón motriz.

En raíces de *Arabidopsis* se ha identificado una proteína transportadora de auxina de tipo permeasa, AUX1, relacionada con proteínas bacterianas transportadoras de aminoácidos (Bennett y col. 1996). Las raíces de los mutantes *aux1* son agravitrópi-

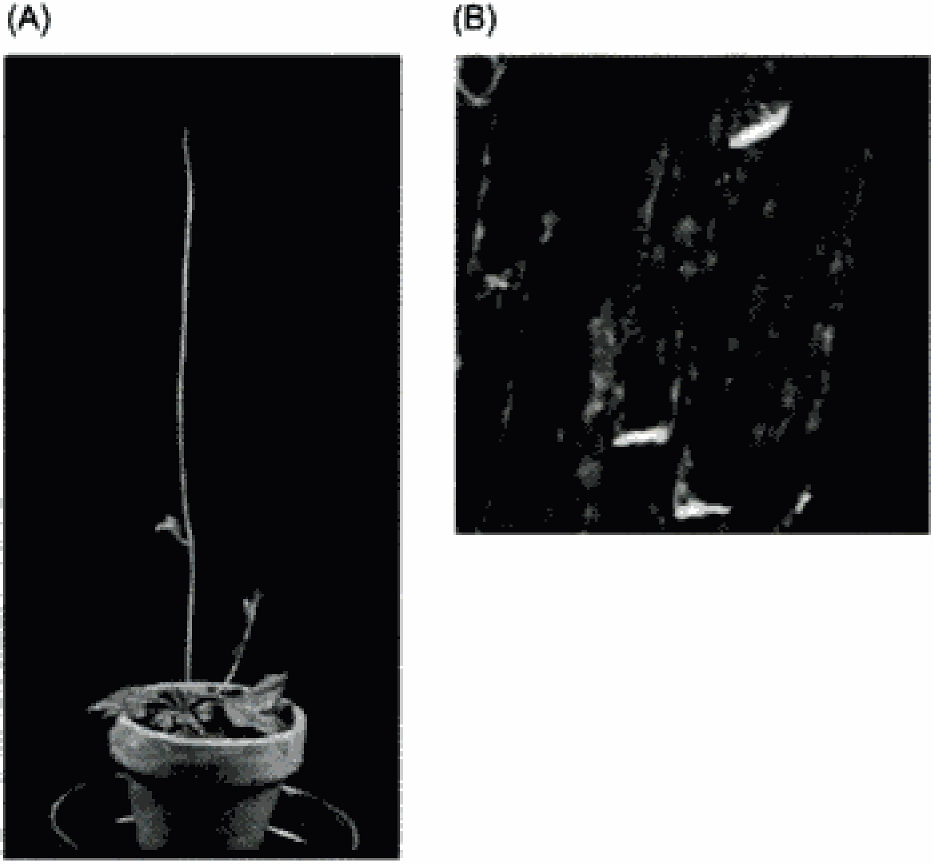


Figura 19.14 El mutante *pin1* de *Arabidopsis* (A) y la localización de la proteína PIN1 en los extremos basales de las células conductoras por microscopía de inmunofluorescencia (B). (Gentileza de L. Gälweiler y K. Palme.)

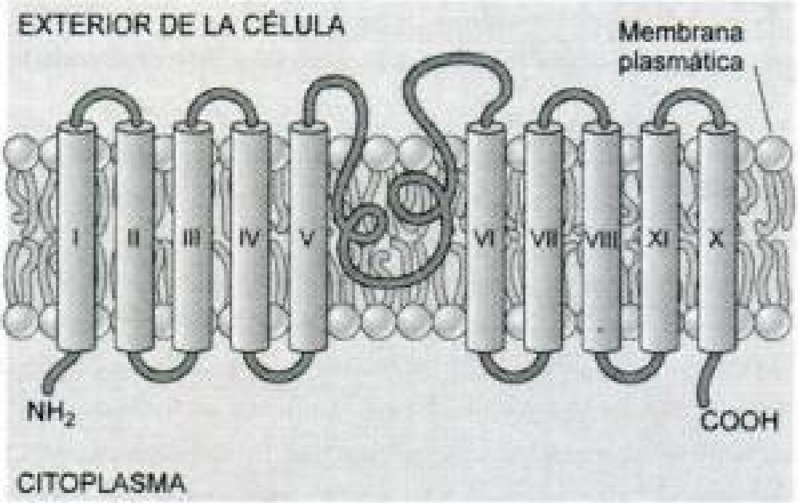


Figura 19.15 Topología de la proteína PIN1 en los diez segmentos transmembrana y un gran bucle hidrofílico en el medio. (Según Palme y Gälweiler 1999.)

cos, lo que sugiere que la incorporación de auxina es un factor limitante para el gravitropismo en raíces. Como predice el modelo quimiosmótico, AUX1 parece estar uniformemente distribuida en las células de la ruta de transporte polar (Marchant y col. 1999). Así, en general, la polaridad del transporte de auxina está gobernada por la etapa de salida de auxina, más que por la de entrada.

***La salida de la auxina*.** Una vez que entra en el citosol, que tiene un pH de 7,2, casi todo el IAA se disociará a la forma aniónica. Como la membrana es menos permeable al IAA$^-$ que al IAAH, el IAA$^-$ tenderá a acumularse en el citosol. No obstante, una gran parte de la auxina que entra en la célula escapa gracias a una *proteína exportadora de aniones auxina*. De acuerdo con el modelo quimiosmótico, el transporte de IAA$^-$ fuera de la célula está dirigido por el potencial de membrana del interior, que es negativo.

Como explicamos anteriormente, la característica principal del modelo quimiosmótico para el transporte polar es que la salida de IAA$^-$ tiene lugar preferentemente en el extremo basal de cada célula. La repetición de la incorporación de la auxina en el extremo apical de la célula y la liberación preferente desde la base de cada célula de la ruta da lugar al efecto global del transporte polar. Una familia de posibles proteínas exportadoras de auxina, conocidas como **proteínas PIN** (nombre que procede de las inflorescencias con forma de pino formadas por el mutante *pin1* de *Arabidopsis*; figura 19.14A) están localizadas precisamente, como predice el modelo, en los extremos basales de las células conductoras (véase la figura 19.14B).

Las proteínas PIN tienen de 10 a 12 segmentos transmembrana característicos de una gran superfamilia de transportadores bacterianos y eucarióticos, que incluye proteínas de resistencia a fármacos y transportadores de azúcares (Figura 19.15). A pesar de las similitudes topológicas con otros transportadores, los estudios recientes sugieren que las proteínas PIN pueden necesitar otras proteínas para su actividad y que pueden formar parte de complejos proteicos mayores.

Los inhibidores del transporte de auxina bloquean el flujo de salida de auxina

Se han sintetizado varios compuestos que pueden actuar como **inhibidores del transporte de auxina (ATI)**, entre los que se incluyen el NPA (ácido 1-N-naftilftalámico) y el TIBA (ácido 2,3,5-triyodobenzoico) (Figura 19.16). Estos inhibidores bloquean el transporte polar y evitan la salida de la auxina. Se puede demostrar este fenómeno por incorporación de NPA o TIBA bien en el bloque dador o bien en el bloque receptor en un experimento clásico de transporte de auxina. Ambos compuestos inhiben el flujo de auxina al bloque receptor, pero no afectan a la incorporación de la auxina por parte del bloque dador.

Algunos ATI, como el TIBA, que tienen una actividad auxínica débil y son transportados polarmente, pueden inhibir parcialmente el transporte polar al competir con la auxina por el sitio de unión en la proteína transportadora. Otros, que no son transportados polarmente, como el NPA, se cree que interfieren en el transporte de auxina al unirse con las proteínas asociadas al complejo del transportador de auxina. Estas proteínas que unen NPA también se encuentran en los extremos basales de las células conductoras, lo que coincide con la localización de las proteínas PIN (Jacobs y Gilbert 1983).

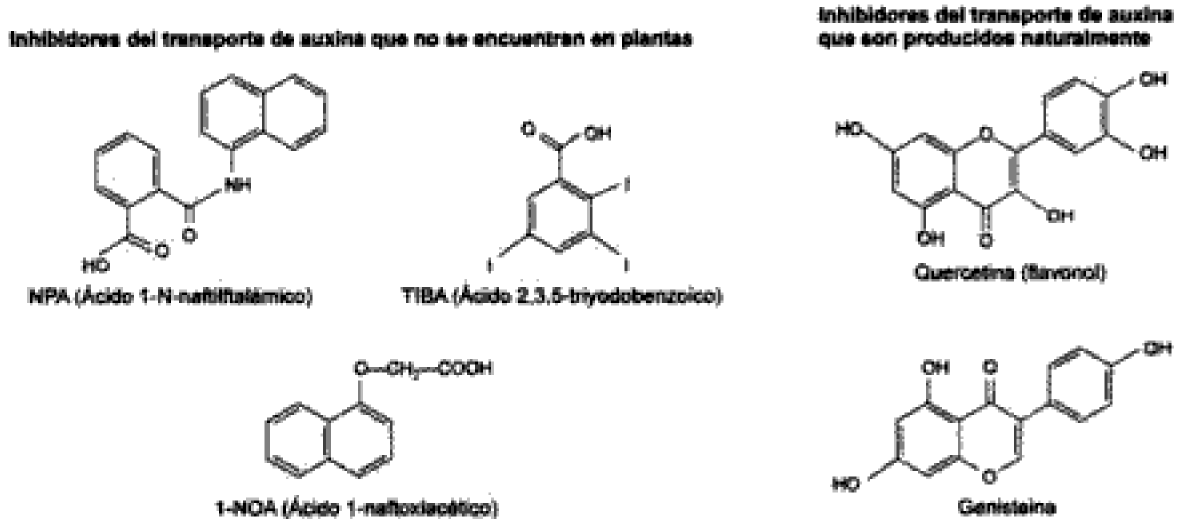

Inhibidores del transporte de auxina que no se encuentran en plantas
Inhibidores del transporte de auxina que son producidos naturalmente
NH
O
HO
O
OH
I
I
I
OH
HO
O
OH
OH
OH
O
NPA (Ácido 1-N-naftilftalámico)
TIBA (Ácido 2,3,5-triyodobenzoico)
Quercetina (flavonol)
O—CH₂—COOH
1-NOA (Ácido 1-naftoxiacético)
OH
O
OH
HO
O
Genisteína

Figura 19.16 Estructura de inhibidores del transporte de auxinas.

Recientemente se ha identificado otra clase de proteínas ATI que inhiben la proteína transportadora de auxina AUX1 (Parry y col. 2001). Por ejemplo, el ácido 1-naftoxiacético (1-NOA) (véase la figura 19.16) bloquea la incorporación de la auxina a las células y cuando se aplica en plantas de *Arabidopsis* provoca una falta de gravitropismo similar a la del mutante *aux1*. Al igual que sucede con la mutación aux1, ni el 1-NOA ni ninguno de los inhibidores específicos de AUX1 bloquean el transporte polar de auxinas.

Las proteínas PIN son rápidamente recirculadas a y desde la membrana plasmática

La localización basal de las proteínas transportadoras de salida de auxina implica la existencia de vesículas de secreción diana en los extremos basales de las células conductoras. Recientemente se ha demostrado que las proteína PIN, aunque estables, no permanecen en la membrana plasmática de forma permanente, sino que son rápi-

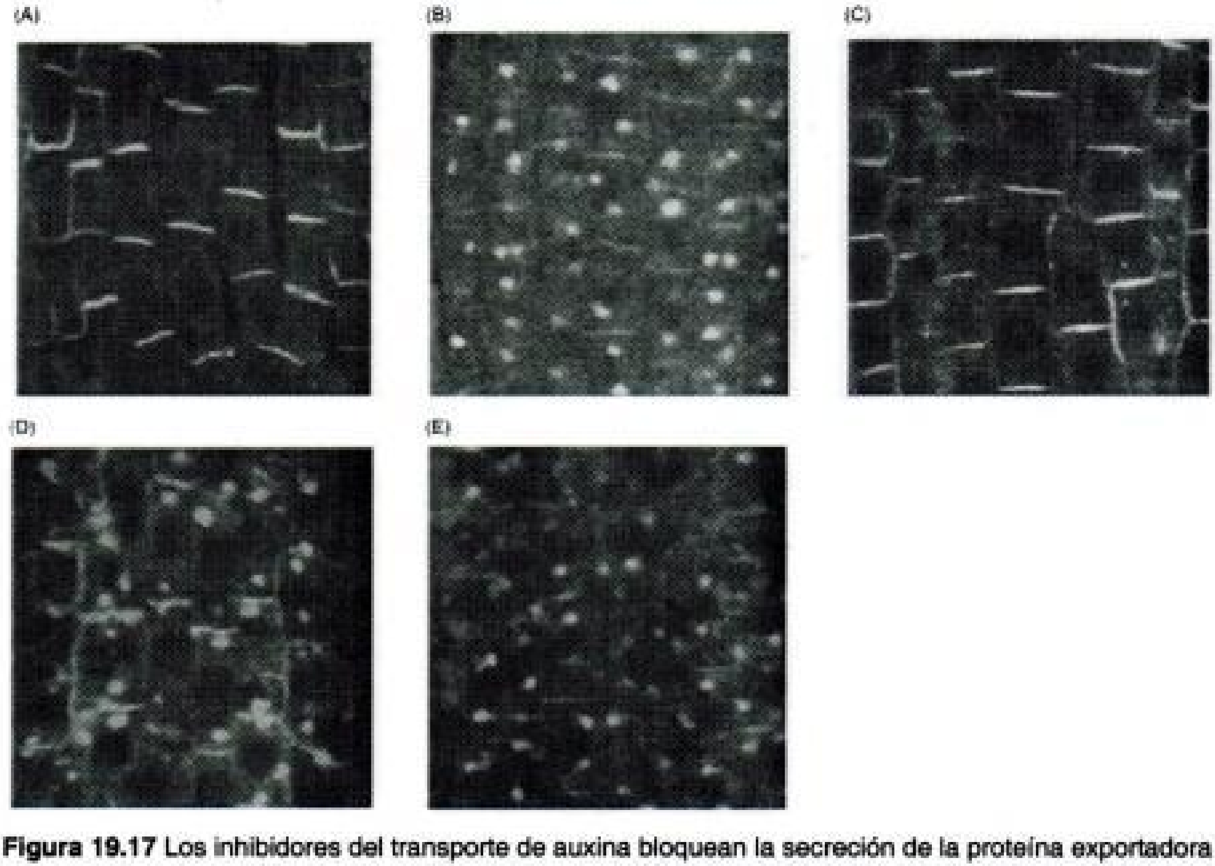


Figura 19.17 Los inhibidores del transporte de auxina bloquean la secreción de la proteína exportadora de auxinas, PIN1, hacia la membrana plasmática. (A) El control muestra la localización asimétrica de PIN1. (B) Después del tratamiento con brefeldina A (BFA). (C) Tras un lavado de dos horas con un tampón para eliminar el BFA. (D) Tras un lavado para quitar el BFA con citochalasina D. (E) Tras un lavado para eliminar el BFA con el inhibidor del transporte de auxina TIBA en el tampón de lavado. (Fotos gentileza de Klaus Palme 1999.)

damente recirculadas a un compartimento endosómico todavía no identificado a través de vesículas endocíticas y de allí son recicladas de vuelta a la membrana plasmática (Geldner y col. 2001).

Antes del tratamiento, la proteína PIN1 se localiza en los extremos basales (arriba) de las células parenquimáticas corticales (Figura 19.17A). El tratamiento de plántulas de *Arabidopsis* con brefeldina A (BFA), que obliga a las vesículas del aparato de Golgi a agregarse cerca del núcleo, hace que PIN se acumule en esos compartimentos intracelulares anormales (véase la figura 19.17B). Cuando el BFA se elimina mediante lavado con un tampón, se reestablece la localización normal en la membrana plasmática de la base de la células (Figura 19.17C). Pero cuando en el tampón normal de lavado se incluye citochalasina D, un inhibidor de la polimerización

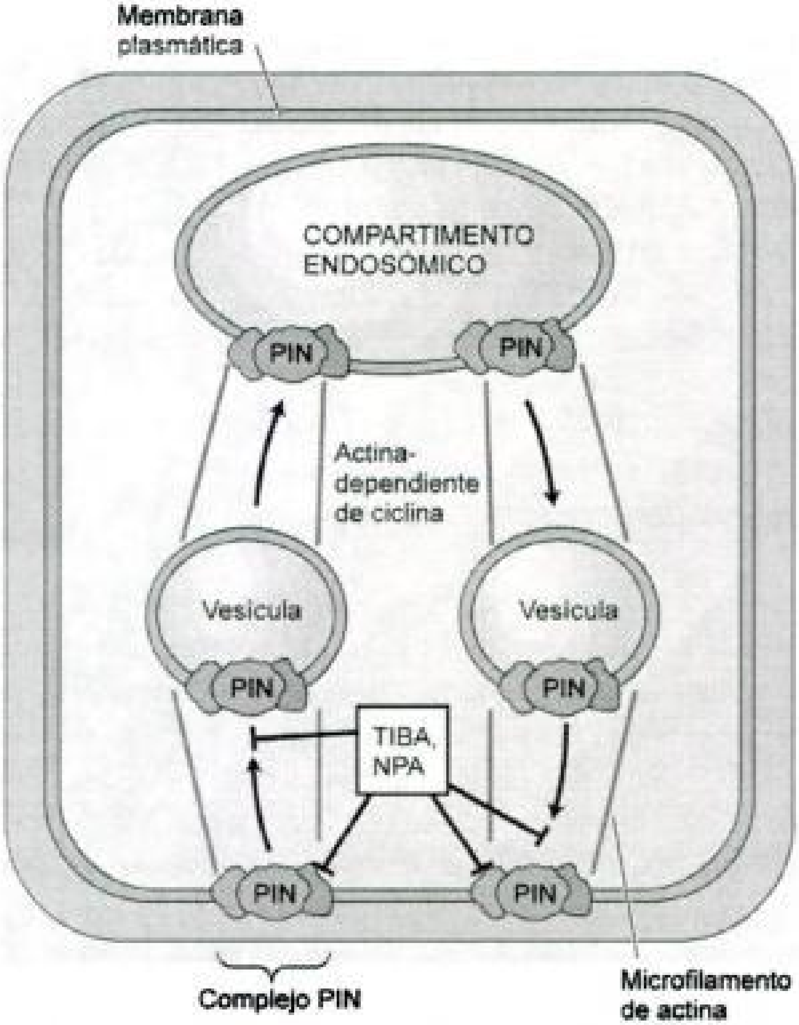

Membrana plasmática
COMPARTIMENTO ENDOSÓMICO
PIN
PIN
Actina-dependiente de ciclina
Vesícula
Vesícula
PIN
PIN
TIBA, NPA
PIN
PIN
Complejo PIN
Microfilamento de actina

Figura 19.18 Recirculación de PIN dependiente de auxina entre la membrana plasmática y un compartimento endosómico. Los inhibidores del transporte de auxinas, TIBA y NPA, interfieren en la relocalización de las proteínas PIN1 en las membranas plasmáticas basales después del lavado para eliminar BFA (véase la figura 19.17). Esto sugiere que estos inhibidores del transporte de auxina interfieren en la recirculación de PIN1.

de la actina, se impide la relocalización normal de PIN en la membrana plasmática (véase la figura 19.17D). Estos resultados indican que las PIN son recirculadas rápidamente entre la membrana plasmática de la base de la célula y un compartimento endosómico no identificado, mediante un mecanismo dependiente de actina.

Aunque se unen a dianas diferentes, tanto el TIBA como el NPA interfieren con el tráfico vesicular a y desde la membrana plasmática. La mejor forma de demostrar este fenómeno es incluir TIBA en la solución de lavado después del tratamiento con BFA. En estas condiciones, el TIBA evita la relocalización normal de PIN en la membrana plasmática después del tratamiento de lavado (véase la figura 19.17E) (Geldner y col. 2001).

Los efectos del TIBA y el NPA sobre la recirculación no son específicos de las proteínas PIN y se ha propuesto que las proteínas ATI pueden ser en realidad inhibidores generales de la circulación de la membrana (Geldenr y col. 2001). Por otro lado, ni el TIBA ni el NPA por separado son capaces de deslocalizar las proteínas PIN, incluso aunque bloqueen la salida de auxina. Por lo tanto, estos inhibidores deben también ser capaces de inhibir directamente la actividad de transporte de los complejos PIN en la membrana plasmática, por unión bien a las PIN (como hace el TIBA) o bien a las proteínas reguladoras (como hace el NPA).

En la figura 19.18 se muestra un modelo simplificado de los efectos del TIBA y el NPA sobre la recirculación de PIN y la salida de auxina. En el **ensayo web 19.2** hay un modelo más completo que incorpora muchos de los descubrimientos más recientes.

Los flavonoides actúan como ATI endógenos

Existen numerosas pruebas de que los flavonoides (véase el capítulo 13) pueden actuar como reguladores endógenos del transporte polar de auxinas. De hecho, los compuestos flavonoides naturales aglicona (flavonoides sin azúcares unidos) son capaces de competir con el NPA por su sitio de unión en las membranas (Jacobs y Rubery 1988) y suelen estar localizados en los extremos basales de las células donde se concentran las proteínas exportadoras de auxina (Peer y col. 2001). Además, estudios recientes han demostrado que las células de los mutantes de *Arabidopsis* deficientes en flavonoides acumulan menos auxina que las células de tipo silvestre y que las plántulas mutantes que carecen de flavonoides tienen alterados los perfiles de distribución de auxinas (Murphy y col. 1999; Brown y col. 2001).

Muchos de los flavonoides que desplazan el NPA de su sitio de unión sobre las membranas también son inhibidores de las proteína quinasas y proteína fosfatasas (Bernasconi 1996). Se ha identificado un mutante de *Arabidopsis* designado como *rcn1* (del inglés *r*oots *c*urls in *N*PA *1*, raíces rizadas por NPA 1) debido a un aumento de la sensibilidad a NPA. El gen RCN1 está muy relacionado con una subunidad reguladora de la proteína fosfatasa 2A, una serina/treonina fosfatasa (Garbers y col. 1996).

Las proteína fosfatasas son conocidas por su participación en la regulación enzimática, la expresión génica y la transducción de señal mediante la eliminación de los grupos fosfatos reguladores de las proteínas (véase el capítulo 14 en la página web). Este hallazgo sugiere que podría haber una ruta de transducción de señal que utiliza proteína quinasas y proteína fosfatasas implicadas en la señalización entre las proteínas de unión de NPA y las proteínas exportadoras de auxinas.

La auxina es también transportada de forma no polar a través del floema

La mayor parte del IAA que se sintetiza en las hojas maduras parece ser transportado al resto de la planta a través de una ruta no polar a través del floema. Las au-

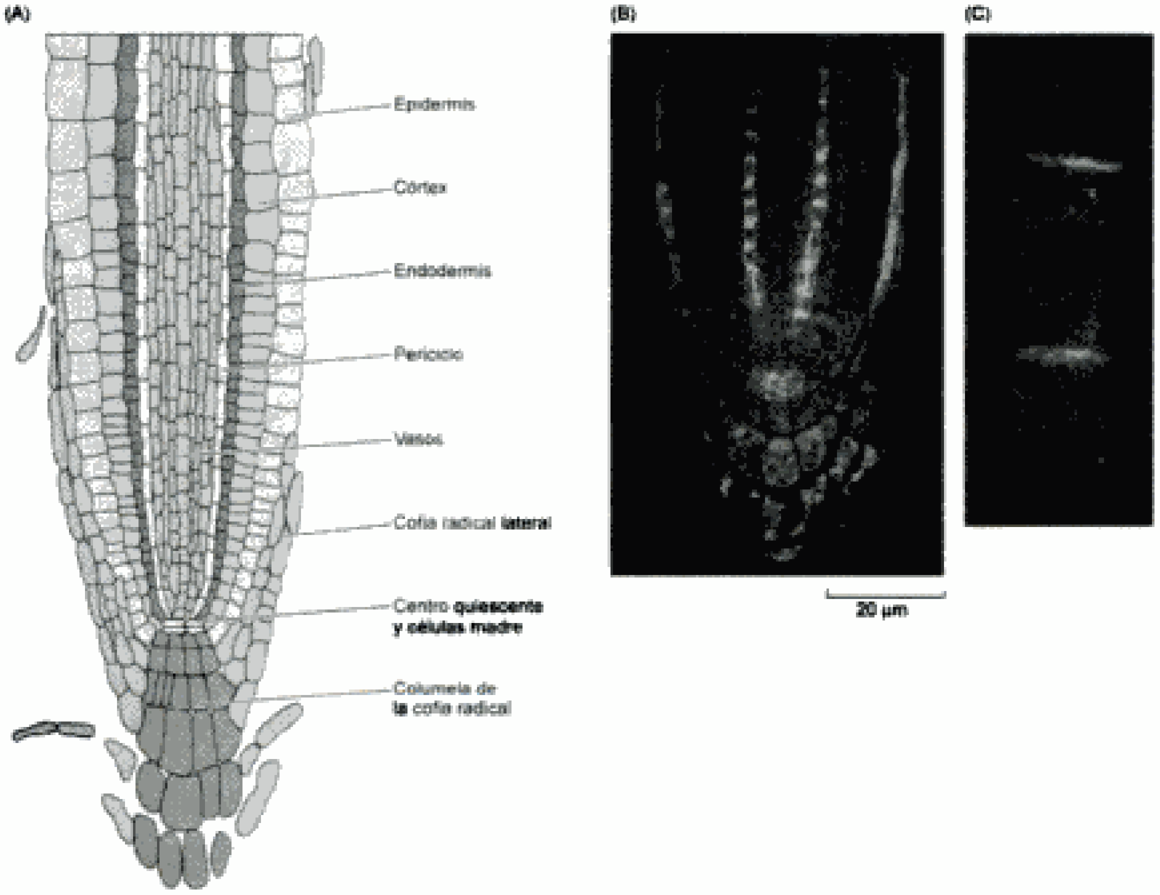


Figura 19.19 La permeasa de auxina AUX1 se expresa en un lugar específico de la columela, la cofia lateral radical y los tejidos del cilindro vascular. (A) Diagrama de tejidos en el ápice de la raíz de *Arabidopsis*. (B) Inmunolocalización de AUX1 en el protofloema de las células del cilindro vascular, un grupo central de células en la columela y en las células de la cofia de las raíces laterales. (C) Localización asimétrica de AUX1 en una fila de células del protofloema. La escala es 2 µm en C. (Según Swarup y col. 2001.)

xinas, junto con otros componentes de la savia del floema, se pueden transportar desde las hojas hacia arriba o hacia abajo en la planta a velocidades muy superiores a las del transporte polar (véase el capítulo 10). El transporte de la auxina por el floema es prácticamente pasivo, es decir, no necesita energía de forma directa.

Aunque aún no está clara la importancia de la ruta floemática frente al sistema de transporte polar para el movimiento a largas distancias del IAA en las plantas, las pruebas sugieren que dicha ruta floemática es importante para controlar procesos como la división de las células cambiales, la acumulación de calosa o su eliminación de los elementos de los tubos cribosos y la formación de raíces ramificadas. De hecho, el floema parece representar la principal ruta de transporte de auxinas a largas distancias hacia la raíz (Aloni 1995; Swarup y col. 2001).

El transporte polar y el transporte por el floema no son independientes el uno del otro. Estudios recientes en guisante con IAA marcado radiactivamente sugieren que las auxinas pueden ser transferidas desde la ruta floemática no polar a la ruta de transporte polar. Esta transferencia tiene lugar principalmente en los tejidos inmaduros del ápice del tallo.

En *Arabidopsis* se ha documentado recientemente un segundo ejemplo de transferencia desde la ruta floemática no polar al sistema de transporte polar. Se ha demostrado que la permeasa AUX1 se localiza asimétricamente en la membrana plasmática del extremo superior de las células protofloemáticas de la raíz (es decir, el extremo distal desde el ápice) (Figura 19.19).

Se ha propuesto que esta permeasa AUX1 orientada asimétricamente, promueve el movimiento acropétalo de la auxina desde el floema al ápice radical (Swarup y col. 2001). Este tipo de transporte polar basado en la localización asimétrica de AUX1 difiere del transporte polar que se produce en el brote y en la región basal de la raíz, que está basado en la distribución asimétrica del complejo PIN.

Nótese en la figura 19.19B que AUX1 se expresa abundantemente en un grupo de células de la columela de la cofia radical, así como en las células de la cofia de las raíces laterales que se superponen a las células de la zona de elongación distal de la raíz. Estas células forman una ruta basipétala menor, pero fisiológicamente importante, en la que la auxina que alcanza la columela es redirigida hacia los tejidos exteriores de la zona de elongación. Tendremos la oportunidad de estudiar la importancia de esta ruta cuando analicemos el mecanismo de gravitropismo radical.

EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LAS AUXINAS: ELONGACIÓN CELULAR

La auxina fue descubierta como la hormona implicada en la curvatura de los coleóptilos hacia la luz. El coleóptilo se dobla hacia la luz por las velocidades de crecimiento diferentes de la cara iluminada respecto a la que permanece en sombra (véase la figura 19.1). La capacidad de la auxina para regular la velocidad de elongación celular ha fascinado a los científicos. En esta sección revisaremos la fisiología de la elongación celular inducida por auxina, algunos de cuyos aspectos fueron analizados en el capítulo 15.

Las auxinas inducen el crecimiento en tallos y coleóptilos e inhiben el crecimiento en raíces

Como ya hemos visto, la auxina se sintetiza en el ápice caulinar y se transporta basipétalamente a los tejidos inferiores. El aporte constante de auxina que llega a las regiones subapicales del tallo o del coleóptilo es necesario para la elongación continuada de estas células. Como los niveles endógenos de auxina en la región de elongación celular de una planta normal sana están cercanos al óptimo para el crecimiento,

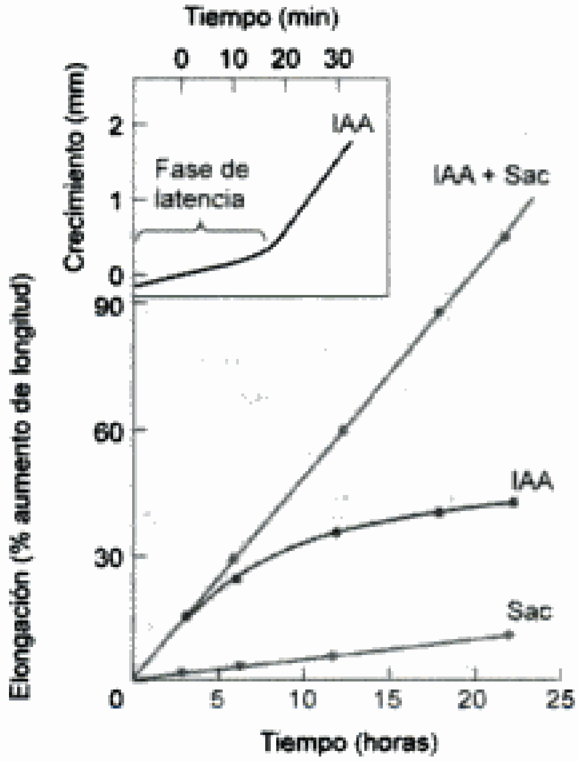


Figura 19.20 Seguimiento de la velocidad del crecimiento inducido por auxina en secciones de coleóptilo de *Avena*. El crecimiento se representa como porcentaje de aumento de longitud. La auxina se añadió a tiempo cero. Cuando se añade sacarosa (Sac) al medio, la respuesta puede continuar durante más de 20 horas. La sacarosa prolonga la respuesta a las auxinas principalmente porque proporciona un soluto osmóticamente activo que puede ser incorporado para el mantenimiento de la presión de turgencia durante la elongación celular. El KCl puede sustituir a la sacarosa. El cuadro interior muestra una gráfica de seguimiento a corto plazo usando un transductor electrónico sensible a la posición. En esta gráfica, el crecimiento se representa como la longitud absoluta (en milímetros) frente al tiempo. La curva muestra un periodo de latencia de unos 15 minutos para el inicio del crecimiento inducido por auxinas. (Según Cleland 1995.)

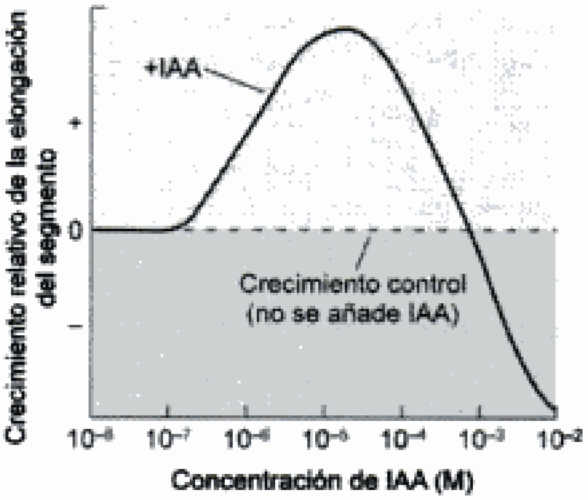


Figura 19.21 Típica curva de dosis-respuesta para el crecimiento inducido por IAA de tallo de guisante o de secciones de coleóptilos de avena. Se representa el crecimiento de secciones escindidas de coleóptilos o de tallos jóvenes frente a la adición de cantidades crecientes de IAA exógeno. A concentraciones mayores (unos 10^{-5} M), el IAA comienza a ser menos efectivo; a unos 10^{-4} M llega a ser inhibidor, como demuestra el hecho de que la curva cae por debajo de la línea de puntos, que representa el crecimiento sin adición de auxinas.

la pulverización de la planta con auxina exógena produce sólo una modesta y breve estimulación del crecimiento y puede llegar a tener un efecto inhibidor en plántulas que crecen en oscuridad, que son más sensibles a concentraciones supraóptimas de auxina que las plantas que crecen a la luz.

Sin embargo, cuando se elimina la fuente endógena de auxina por escisión de las secciones que contienen la zona de elongación, la velocidad de crecimiento se reduce rápidamente a niveles basales. Dichas secciones escindidas responderán drásticamente a la auxina exógena, aumentando rápidamente su velocidad de crecimiento para volver a los niveles de la planta intacta.

En experimentos de larga duración, el tratamiento de las secciones escindidas de coleóptilos (véase la figura 19.12) o de tallos de dicotiledóneas con auxina estimula la velocidad de crecimiento de la sección durante más de 20 horas (Figura 19.20). La concentración de auxina óptima es de 10^{-6} a 10^{-5} M (Figura 19.21). La inhibición por debajo de una concentración óptima se suele atribuir a la biosíntesis de etileno inducida por auxina. Como veremos en el capítulo 22, la hormona gaseosa, etileno, inhibe la elongación del tallo en muchas especies.

El mecanismo de control de la elongación radical resulta difícil de demostrar, quizás porque la auxina induce la producción de etileno, un inhibidor del crecimiento radical. No obstante, incluso aunque la biosíntesis de etileno esté bloqueada específicamente, a bajas concentraciones (10^{-10} a 10^{-9} M) de auxina se promueve el crecimiento de las raíces intactas, mientras que concentraciones mayores (10^{-6} M) inhiben el crecimiento. Por tanto, las raíces necesitan un mínimo de concentración de auxina para crecer, pero el crecimiento radical está fuertemente inhibido por las concentraciones de auxina necesarias para estimular la elongación de tallos y coleóptilos.

Los tejidos exteriores de los tallos de las dicotiledóneas son las dianas de la acción de las auxinas

Los tallos de las dicotiledóneas están formados por muchos tipos de tejidos y células, de los cuales sólo algunos pueden limitar la velocidad de crecimiento. Este aspecto se ilustra con un experimento sencillo. Cuando se cortan longitudinalmente secciones de regiones en crecimiento de tallos de dicotiledóneas etioladas, como guisante, y se incuban en una disolución tampón, las dos mitades se curvan hacia fuera.

Este resultado indica que, en ausencia de auxina en los tejidos centrales incluidos la médula, los tejidos vasculares y el córtex más interno, se elongan más rápidamente que los tejidos exteriores, que son el córtex externo y la epidermis. Por tanto, los tejidos más externos deben limitar la velocidad de extensión del tallo en ausencia de auxinas. Sin embargo, cuando las secciones cortadas se incuban en un tampón al que se le ha añadido auxina, las dos mitades se vuelven a curvar, pero ahora hacia dentro, lo que demuestra que los tejidos más externos de los tallos de las dicotiledóneas son las primeras dianas de la acción de las auxinas durante la elongación celular.

La observación de que las capas celulares exteriores son las dianas de las auxinas parece estar en conflicto con la localización de transporte polar en las células del parénquima de los haces vasculares. Sin embargo, la auxina puede moverse lateralmente desde los haces vasculares de los tallos de las dicotiledóneas a los tejidos más externos de la zona de elongación. Por otro lado, en coleóptilos, todos los tejidos no vasculares (epidermis más mesofilo) son capaces tanto de transportar auxinas como de responder a ellas.

El período de latencia mínimo para el crecimiento inducido por auxinas es de diez minutos

Se puede seguir el crecimiento en respuesta a auxinas con una resolución extremadamente alta cuando se escinde una sección de tallo o coleóptilo y se inserta en un mecanismo capaz de medir el crecimiento. Sin auxina en el medio, la velocidad de crecimiento disminuye rápidamente. La adición de la auxina provoca un claro incremento en la velocidad de crecimiento después de un período de latencia de tan solo 10 o 12 minutos (véase el recuadro de la figura 19.20).

Tanto los coleóptilos de *Avena* (avena) como los hipocótilos (tallos de dicotiledóneas) de *Glycine max* (soja) alcanzan la máxima velocidad de crecimiento entre 30 y

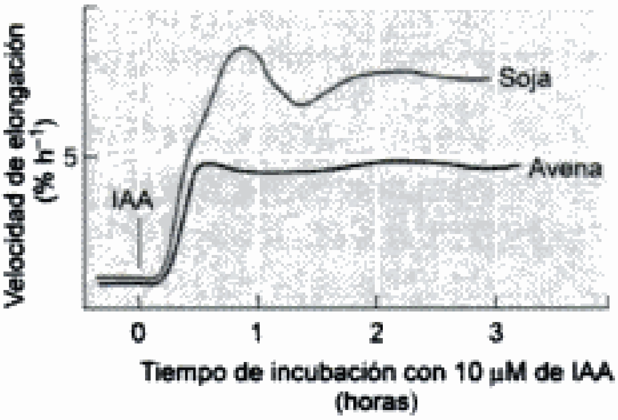


Figura 19.22 Comparación de las cinéticas de crecimiento de secciones de un coleóptilo de avena y un hipocótilo de soja, incubados con IAA 10 mM y un 2% de sacarosa. El crecimiento se representa como la velocidad en cada momento, en lugar de como la velocidad de la longitud absoluta. La velocidad de crecimiento del hipocotilo de soja oscila después de 1 hora, mientras que la del coleóptilo de avena es constante. (Según Cleland 1995.)

60 minutos después de haber sido tratados con auxina (Figura 19.22). Este máximo representa un aumento de entre cinco y diez veces respecto de la velocidad basal. En presencia de solutos osmóticamente activos, como la sacarosa o el KCl, las secciones de coleóptilo de avena pueden mantener esta velocidad máxima durante más de 18 horas.

Como era de esperar, la estimulación del crecimiento por auxinas necesita energía y los inhibidores metabólicos inhiben la respuesta en unos pocos minutos. El crecimiento inducido por auxinas también parece ser sensible a los inhibidores de la síntesis de proteínas, como la cicloheximida, lo que sugiere que las proteínas con velocidades de recambio altas están implicadas en dicho crecimiento. Los inhibidores de la síntesis de RNA también inhiben el crecimiento inducido por auxinas, tras un período de latencia ligeramente más largo.

Aunque el período de latencia del crecimiento estimulado por auxinas puede aumentar al reducir la temperatura o por el uso de concentraciones subóptimas de auxina, dicho período no se puede reducir aumentando la temperatura, por el uso de concentraciones supraóptimas o por abrasión de la cutícula cerosa para permitir la rápida penetración de la auxina en el tejido. Por tanto, el período de latencia mínimo de 10 minutos no está determinado por el tiempo necesario para que la auxina alcance su sitio de acción, sino que refleja el tiempo que necesita la maquinaria bioquímica de la célula para aumentar la velocidad de crecimiento.

La auxina aumenta rápidamente la extensibilidad de la pared celular

¿Cómo puede la auxina provocar un aumento de la velocidad de crecimiento de entre cinco y diez veces en sólo 10 minutos? Para comprender el mecanismo, debemos revisar primero los procesos por los que se produce la elongación en las células vegetales (véase el capítulo 15). Las células vegetales se expanden en tres etapas:

1. La incorporación osmótica de agua a través de la membrana plasmática está dirigida por un gradiente de potencial hídrico ($\Delta\Psi_w$).
2. La presión de turgencia aumenta debido a la rigidez de la pared celular.
3. Se produce la pérdida de rigidez de la pared, permitiendo que la célula se expanda rápidamente en respuesta a la presión de turgencia.

Los efectos de estos tres parámetros sobre la velocidad de crecimiento se pueden englobar en la ecuación de la velocidad de crecimiento:

$$\mathrm{GR} = m\,(\Psi_p - \mathrm{Y})$$

donde GR es la velocidad de crecimiento, Ψ_p es la presión de turgencia, Y es el rendimiento umbral y m es el coeficiente (*extensibilidad de la pared*) que relaciona la velocidad de crecimiento con la diferencia entre Ψ_p e Y.

En principio, las auxinas podrían aumentar la velocidad de crecimiento aumentando m, aumentando Ψ_p o disminuyendo Y. Aunque experimentos exhaustivos han mostrado que la auxina no aumenta la presión de turgencia cuando estimula el crecimiento, se han obtenido resultados controvertidos en los que parece que la auxina induce una disminución de Y. No obstante, hay un acuerdo general en el hecho de que la auxina provoca un aumento del parámetro de extensibilidad de la pared, m.

La salida de protones inducida por auxinas acidifica la pared celular y aumenta la expansión celular

De acuerdo con la **hipótesis del crecimiento ácido**, ampliamente aceptada, los protones actúan como intermediarios entre las auxinas y la pérdida de rigidez de la pared celular. La fuente de protones es la H^+-ATPasa de la membrana plasmática, cuya actividad se cree que aumenta en respuesta a las auxinas. La hipótesis del crecimiento ácido permite hacer cinco predicciones:

1. Los tampones ácidos por sí mismos promoverían el crecimiento a corto plazo, siempre que la cutícula haya sido raspada para permitir el acceso de los protones a la pared celular.
2. Las auxinas aumentarían la velocidad de extrusión de protones (acidificación de la pared) y la cinética de salida de los protones coincidiría con la del crecimiento inducido por auxinas.

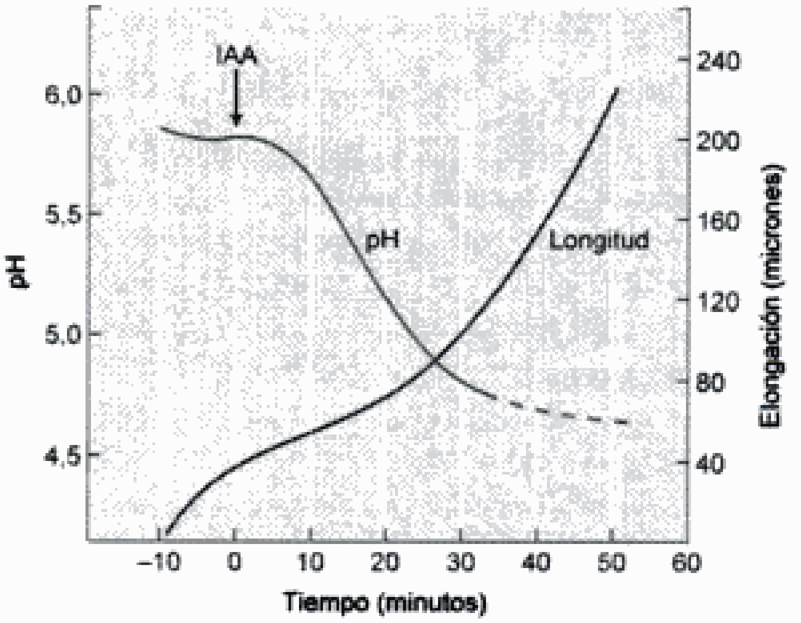


Figura 19.23 Cinética de la elongación inducida por auxinas y de la acidificación de la pared celular en coleóptilos de maíz. El pH de la pared celular se midió con un microelectrodo de pH. Obsérvese que hay períodos de latencia similares (10 a 15 minutos) para la acidificación de la pared celular y el aumento de la velocidad de elongación (Según Jacobs y Ray 1976.)

3. Los tampones neutros inhibirían el crecimiento inducido por auxinas.
4. Otros compuestos (diferentes de las auxinas) que promueven la salida de los protones estimularían el crecimiento.
5. Las paredes celulares contendrían un «factor de pérdida de rigidez de la pared» con un pH óptimo ácido.

Todas estas predicciones han sido confirmadas. Los tampones ácidos provocan un aumento rápido e inmediato de la velocidad de crecimiento, siempre que la cutícula haya sido raspada. La auxina estimula la salida de protones a la pared celular después de un período de latencia de entre 10 y 15 minutos, coherente con la cinética de crecimiento (Figura 19.23).

Se ha demostrado que cuando la cutícula ha sido eliminada, el crecimiento inducido por auxinas también se ve inhibido por tampones neutros. La **fusicocina**, una fitotoxina fúngica, estimula la salida rápida de protones y provoca un rápido crecimiento celular en secciones de tallo y de coleóptilos (véase el **tema web 19.6**). Por último, se han identificado las proteínas responsables de la pérdida de rigidez de la pared (llamadas **expansinas**) en las paredes celulares de una gran variedad de plantas (véase el capítulo 15). A valores ácidos de pH, las expansinas provocan la distensión de las paredes celulares por debilitamiento de los puentes de hidrógeno entre los polisacáridos y los componentes de la pared celular.

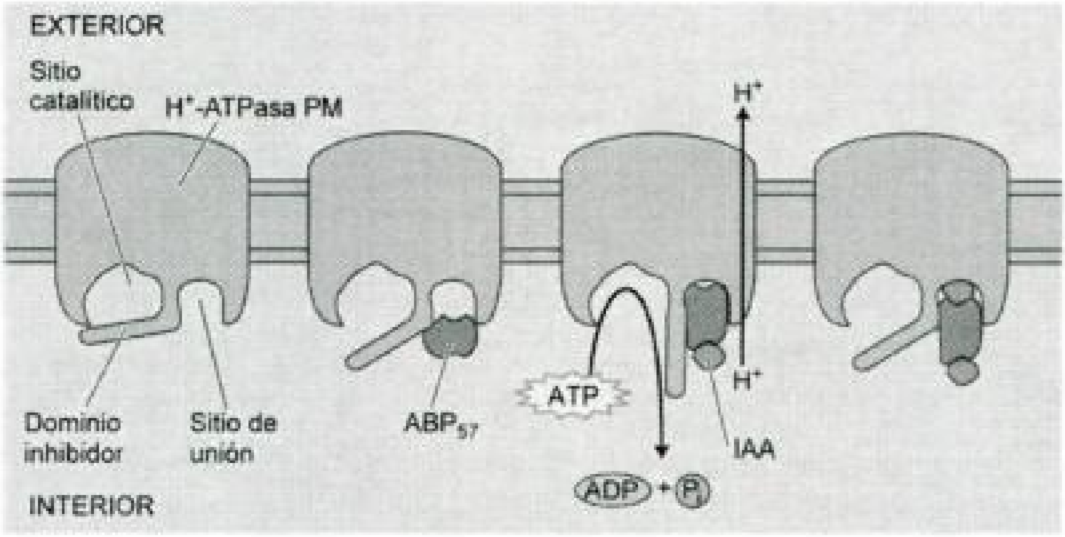
La salida de protones inducida por auxinas puede implicar tanto la activación como la síntesis de H^+-ATPasas

En teoría, las auxinas pueden incrementar la tasa de salida de protones a través de dos mecanismos:

1. La activación de las H^+-ATPasas existentes en la membrana plasmática.
2. La síntesis de nuevas H^+-ATPasas en la membrana plasmática.

Activación de la H^+-ATPasa. Cuando se añade auxina a vesículas de células de tabaco aisladas de la membrana plasmática se observa una pequeña estimulación (cerca del 20 %) de la actividad de bombeo de protones dirigida por ATP, lo que sugiere que la auxina activa directamente la H^+-ATPasa. Se ha observado una estimulación mayor (cerca del 40 %) en las células vivas tratadas con IAA justo antes de que las membranas fueran aisladas, lo que sugiere que también se necesita un factor celular (Peltier y Rossignol 1996).

Aunque no se ha identificado de forma inequívoca el receptor de las auxinas (como explicaremos más adelante en el capítulo), se han aislado varias proteínas de



ABP_{57} se une a la H^+-ATPasa de la membrana plasmática en el sitio de unión.

La unión del IAA provoca un cambio conformacional en ABP_{57}. Entonces ABP_{57} interacciona con el dominio inhibidor de la H^+-ATPasa de la membrana y activa la enzima.

La unión de IAA al segundo sitio disminuye la interaccion con el dominio inhibidor de la H^+-ATPasa y la enzima es inhibida.

Figura 19.24 Modelo para la activación de la H^+-ATPasa de la membrana plasmática (PM) por ABP_{57} y auxina.

unión de auxinas (ABP) y parece que son capaces de activar la H^+-ATPasa de la membrana plasmática en presencia de esta hormona (Steffens y col. 2001).

Recientemente se ha descubierto una ABP de arroz, la ABP_{57}, que se une directamente a la H^+-ATPasa de la membrana plasmática y estimula la salida de protones, pero sólo en presencia de IAA (Kim y col. 2001). En ausencia de IAA, la actividad de la H^+-ATPasa está reprimida por el dominio C-terminal del enzima que puede bloquear el sitio catalítico. La ABP_{57} (con el IAA unido) interacciona con la H^+-ATPasa y activa el enzima. Un segundo sitio de unión de auxinas interfiere con la acción del primero, lo que posiblemente explica la curva en forma de campana de la acción de la auxina. Este modelo hipotético de la acción de ABP_{57} se muestra en la figura 19.24.

Síntesis de la H^+-ATPasa. La capacidad de los inhibidores de la síntesis de proteínas, como la cicloheximida, para inhibir rápidamente la salida de protones inducida por auxina y el crecimiento sugiere que la auxina debería estimular el bombeo de protones aumentando la síntesis de H^+-ATPasa. Se ha detectado por métodos inmunológicos un aumento de la cantidad de ATPasa en la membrana plasmática en coleóptilos de maíz sólo 5 minutos después del tratamiento con auxina, y tras 40 minutos es posible observar el doble de H^+-ATPasas. La cantidad de RNAm para la H^+-ATPasa se triplica en los tejidos no vasculares de los coleóptilos.

Hipótesis de la activación: La auxina se une a una proteína de unión a la auxina (ABP1) localizada bien en la superficie celular o bien en el citosol. Entonces ABP1-IAA interacciona directamente con la H^+-ATPasa de la membrana plasmática para estimular el bombeo de protones (etapa 1). También podrían estar implicados segundos mensajeros, como el calcio o el pH intracelular.

Hipótesis de la síntesis: Un segundo mensajero inducido por IAA activa la expresión de genes (etapa 2) que codifican una H^+-ATPasa de la membrana plasmática (etapa 3). La proteína se sintetiza en el retículo endoplásmico rugoso (etapa 4) y se dirige a la membrana plasmática a través de una ruta secretora (etapas 5 y 6). El aumento de la salida de protones resulta del aumento del número de bombas de protones en la membrana.

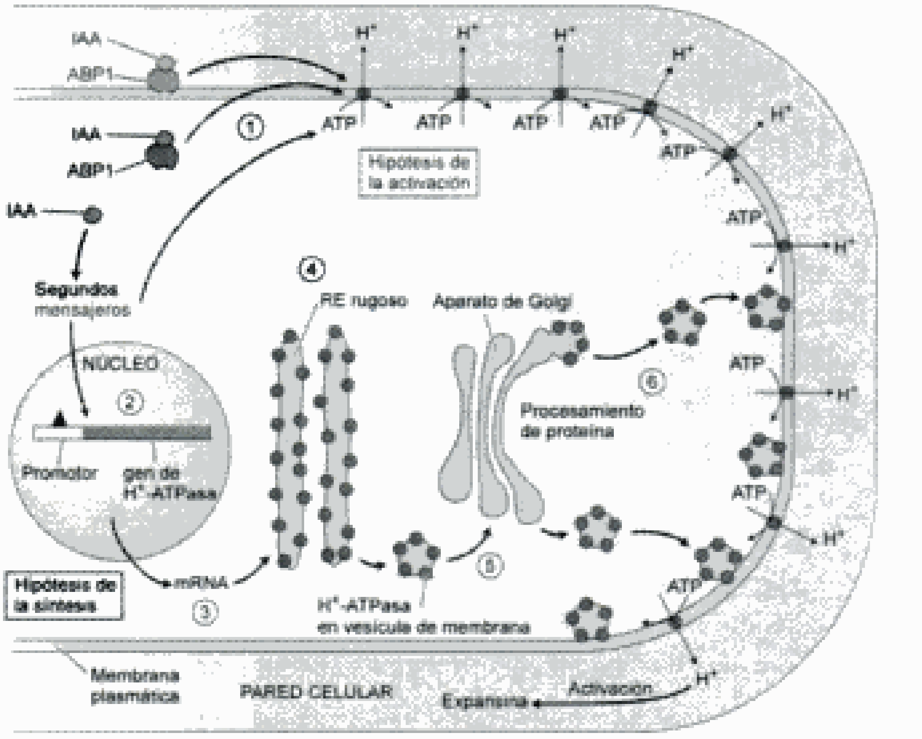

IAA
ABP1
IAA
ABP1
IAA
H⁺
H⁺
H⁺
H⁺
H⁺
①
ATP
ATP
ATP
ATP
ATP
Hipótesis de la activación
ATP
H⁺
Segundos mensajeros
④
RE rugoso
Aparato de Golgi
NÚCLEO
②
ATP
⑥
H⁺
Procesamiento de proteína
Promotor
gen de H⁺-ATPasa
ATP
H⁺
Hipótesis de la síntesis
mRNA
③
⑤
H⁺-ATPasa en vesícula de membrana
ATP
Membrana plasmática
PARED CELULAR
Activación
H⁺
Expansina

Figura 19.25 Modelos actuales para la salida de H+ inducida por IAA. En muchas plantas, los dos mecanismos pueden actuar a la vez. Independientemente de cómo se produce el aumento del bombeo de H+, se cree que la despolimerización de la pared inducida por pH ácido está mediada por las expansinas.

En resumen, la cuestión de la activación frente a la síntesis todavía debe ser resuelta y es posible que la auxina estimule la salida de protones tanto por activación como por estimulación de la síntesis de la H^+-ATPasa. En la figura 19.25 se resumen los mecanismos propuestos para la pérdida de rigidez de la pared celular inducida por auxina mediante la salida de protones.

EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LAS AUXINAS: FOTOTROPISMO Y GRAVITROPISMO

Existen tres sistemas principales de control de la orientación del crecimiento vegetal:

1. El **fototropismo**, o crecimiento en respuesta a la luz, se expresa en los brotes y algunas raíces y asegura que las hojas reciben la luz del sol óptima para la fotosíntesis.
2. El **gravitropismo**, crecimiento en respuesta a la gravedad, permite que las raíces penetren en el suelo y que los tallos crezcan alejándose del mismo, lo que es especialmente crítico en las primeras etapas de a germinación.
3. El **tigmotropismo**, o crecimiento en respuesta al contacto, que permite a las raíces crecer alrededor de rocas y es el responsable de la capacidad de los tallos de las plantas trepadoras de enrollarse sobre otras estructuras para que las soporten.

En esta sección, examinaremos las evidencias de la curvatura en respuesta a la luz o a la gravedad como consecuencia de una redistribución lateral de auxinas. También consideraremos los mecanismos celulares que implican la generación de gradientes laterales de auxina durante el crecimiento curvado. Poco se sabe acerca de los mecanismos del tigmotropismo, aunque probablemente también implica gradientes de auxinas.

El fototropismo está mediado por la redistribución lateral de auxina

Como vimos antes, Charles y Francis Darwin proporcionaron la primera pista sobre el mecanismo de los fototropismos, demostrando que los sitios de percepción y el crecimiento diferencial (curvatura) están separados: la luz se percibe en el ápice, pero la curvatura ocurre más abajo. Los Darwin propusieron que la respuesta asimétrica de crecimiento era consecuencia del transporte de alguna «influencia» desde el ápice a la región en crecimiento. Más tarde se vio que esa influencia era el ácido indol-3-acético, la auxina.

Cuando un brote crece en vertical, la auxina es transportada polarmente desde el ápice en crecimiento hasta la zona de elongación. La polaridad del transporte de las auxinas desde el ápice a la base está determinada por el desarrollo y es independiente de la orientación respecto a la gravedad. Sin embargo, las auxinas también pueden ser transportadas lateralmente y es este movimiento el que las coloca en el centro del modelo de tropismo propuesto originalmente, de forma independiente, por el fisiólogo vegetal ruso Nicolai Cholodny y por Frits Went desde Holanda, en los años 1920.

De acuerdo con el modelo de fototropismo de Cholodny-Went, los ápices de los coleóptilos de las herbáceas tienen tres funciones especializadas:

1. La producción de auxina.
2. La percepción de un estímulo luminoso unilateral.
3. El transporte lateral de IAA en respuesta al estímulo fototrópico.

Así, en respuesta a un estímulo luminoso direccional, la auxina producida en el ápice es transportada lateralmente hacia el lado en sombra, en lugar de basipétalamente.

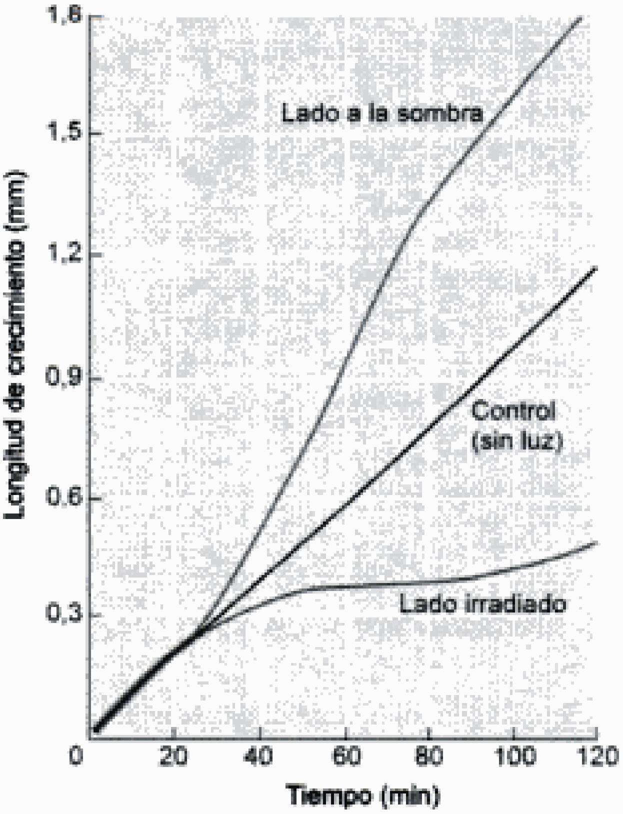


Figura 19.26 Curva de crecimiento de los lados iluminados y en sombra de coleóptilos en respuesta a un pulso de luz azul unidireccional de 30 segundos. Los coleóptilos control no recibieron el tratamiento luminoso. (Según Lino y Briggs 1984.)

Los sitios precisos de producción de auxinas, de percepción de la luz y de transporte lateral han sido difíciles de determinar. En coleóptilos de maíz, la auxina se produce en los 1 o 2 mm superiores del ápice. Las zonas de fotosensibilidad y del transporte lateral son más extensas, los 5 mm superiores del ápice. La respuesta depende mucho de la fluencia de la luz (véase el **tema web 19.7**).

Hay dos flavoproteínas, las *fototropinas 1* y *2*, que son los fotorreceptores de la ruta de señalización de la luz del azul (véase el **ensayo web 19.3**) que induce la curvatura fototrópica en los hipocotilos de *Arabidopsis* y en coleóptilos de avena en condiciones de alta y baja fluencia (Briggs y col. 2001).

Las fototropinas son proteína quinasas que se autofosforilan y cuya actividad es estimulada por la luz del azul. El espectro de acción para la activación por la **luz del azul** de la actividad quinasa está estrechamente relacionado con el espectro de acción del fototropismo, que incluye múltiples picos en la región del azul. La fototropina 1 muestra un gradiente lateral en la fosforilación durante la exposición a luz del azul unilateral de baja fluencia.

De acuerdo con la hipótesis actual, el gradiente en la fosforilación de la fototropina induce el movimiento de la auxina hacia el lado en sombra del coleóptilo (véase el **tema web 19.7**). Una vez que la auxina alcanza el lado en sombra del ápice, es transportada basipétalamente a la zona de elongación, donde estimula la elongación celular. La aceleración del crecimiento en el lado sombreado y la ralentización del crecimiento en el lado iluminado (crecimiento diferencial) dan lugar a la curvatura hacia la luz (Figura 19.26).

Las pruebas directas del modelo de Cholodny-Went, usando el bioensayo de la curvatura del coleóptilo con el bloque de agar han apoyado la predicción que hace este modelo según la cual en los ápices de los coleóptilos, la auxina es transportada lateralmente en respuesta a la luz unilateral (Figura 19.27). La cantidad total de au-

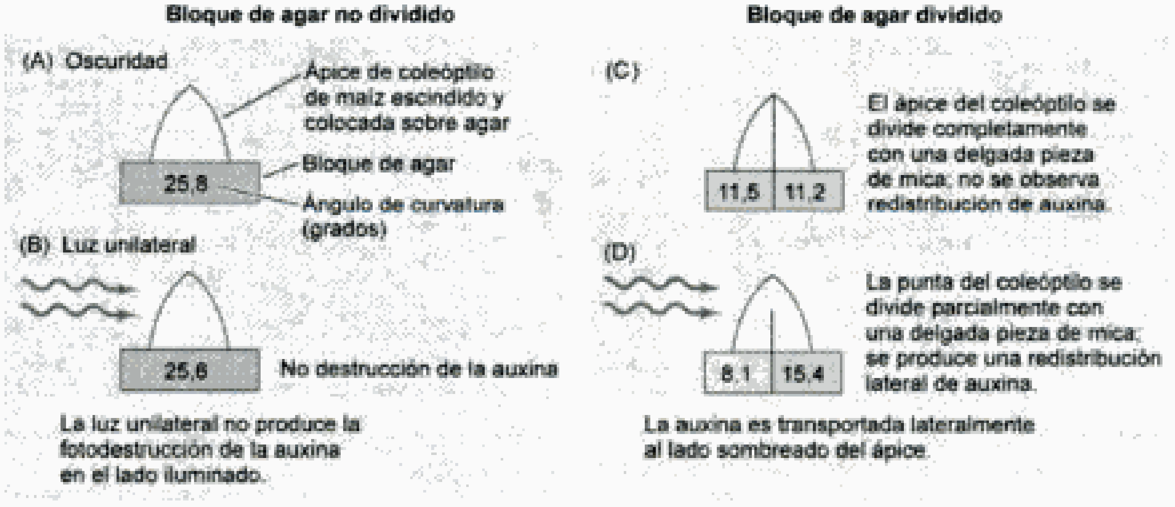

Bloque de agar no dividido
Bloque de agar dividido
(A) Oscuridad
Ápice de coleóptilo de maíz escindido y colocada sobre agar
Bloque de agar
25,8
Ángulo de curvatura (grados)
(B) Luz unilateral
25,6
No destrucción de la auxina
La luz unilateral no produce la fotodestrucción de la auxina en el lado iluminado.
(C)
11,5
11,2
El ápice del coleóptilo se divide completamente con una delgada pieza de mica; no se observa redistribución de auxina.
(D)
8,1
15,4
La punta del coleóptilo se divide parcialmente con una delgada pieza de mica; se produce una redistribución lateral de auxina.
La auxina es transportada lateralmente al lado sombreado del ápice.

Figura 19.27 Evidencias de la redistribución lateral de las auxinas estimulada por luz unidireccional en coleóptilos de maíz.

xina que difunde fuera del ápice (expresada aquí como ángulo de curvatura) es la misma en presencia de luz unilateral y en oscuridad (compárense las figuras 19.27A y B). Este resultado indica que la luz no provoca la fotodestrucción de la auxina en el lado iluminado, como proponía el modelo propuesto por otros investigadores.

De acuerdo con la hipótesis de Cholodny–Went y con la hipótesis del crecimiento ácido, el pH apoplástico en el lado en sombra es más ácido que el del lado iluminado en tallos o coleóptilos que se están curvando fototrópicamente (Mulkey y col. 1981).

El gravitropismo también implica la redistribución lateral de auxina

Cuando se orientan horizontalmente plántulas de *Avena* cultivadas en oscuridad, los coleóptilos se curvan hacia arriba en respuesta a la gravedad. De acuerdo con el modelo de Cholodny–Went, en un ápice de coleóptilo orientado horizontalmente, las auxinas son transportadas lateralmente a la parte inferior, provocando un aumento de la velocidad de crecimiento en el lado inferior respecto del superior. Experimentos recientes han indicado que el ápice del coleóptilo puede percibir la gravedad y redistribuir las auxinas hacia la parte inferior. Por ejemplo, si se colocan horizontalmente ápices de coleóptilos, la cantidad de auxina que difunde de la parte inferior es mayor que la que lo hace de la parte superior (Figura 19.28).

Los tejidos bajo el ápice también son capaces de responder a la gravedad. Por ejemplo, cuando los coleóptilos de maíz orientados verticalmente se decapitan por eliminación de los 2 mm superiores del ápice y se orientan horizontalmente, se

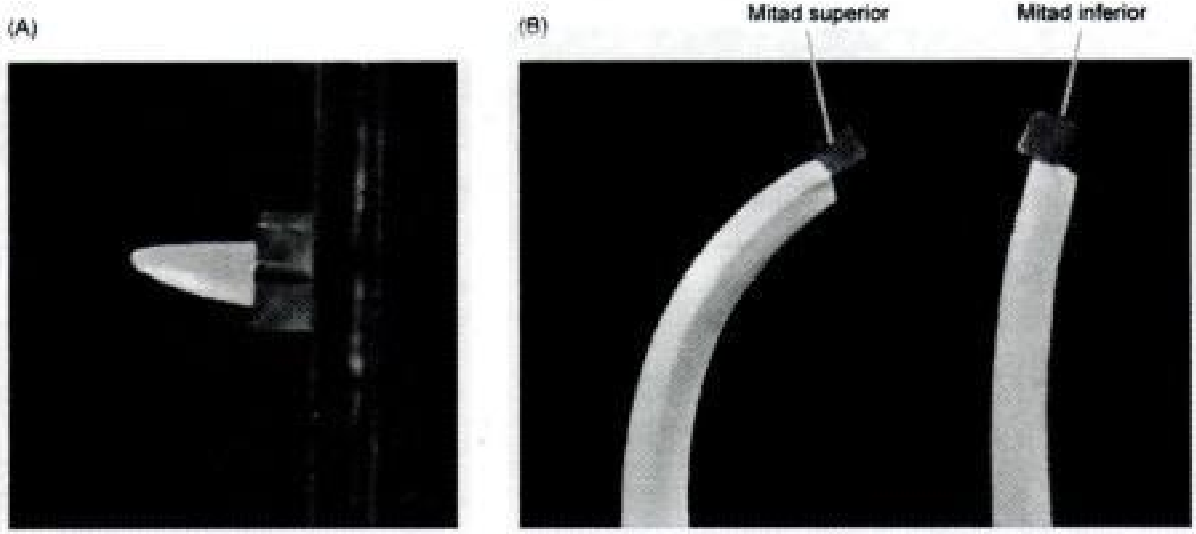


Figura 19.28 La auxina es transportada al lado inferior de un ápice de coleóptilo de avena orientado horizontalmente. (A) Se permite que la auxina difunda desde las mitades superior e inferior de un ápice horizontal a dos bloques de agar. (B) El bloque de agar de la mitad inferior (izquierda) induce mayor curvatura en un coleóptilo decapitado que el bloque de agar de la mitad superior (derecha). (Foto © M. B. Wilkins.)

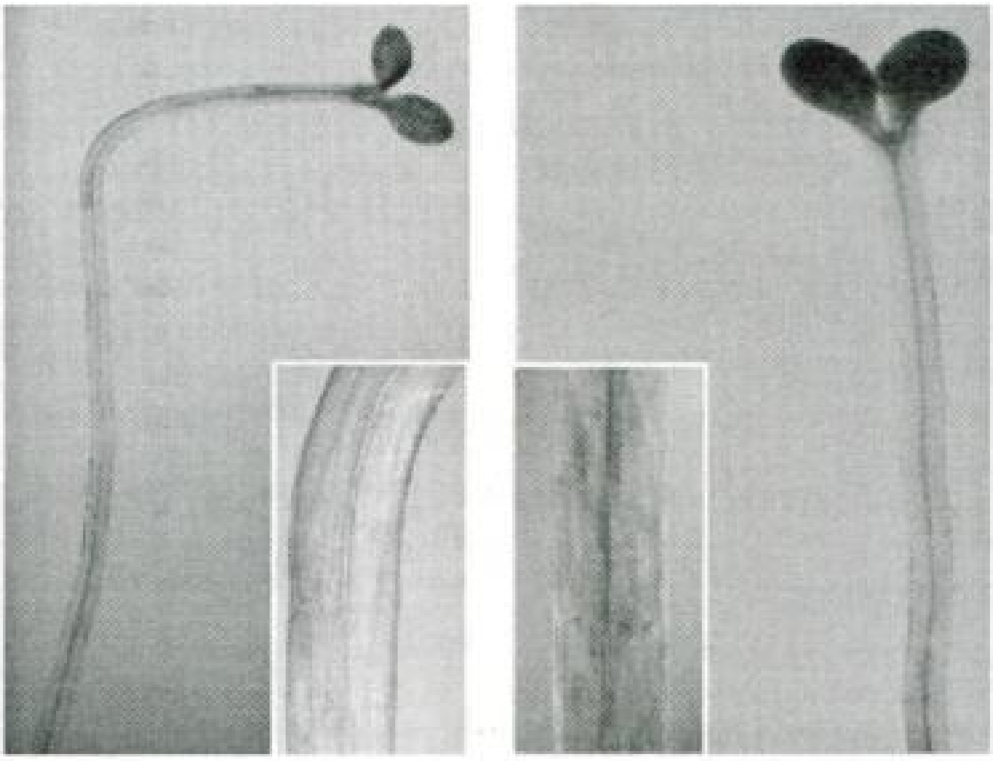


Figura 19.29 Los gradientes laterales de auxina se forman en los hipocótilos de *Arabidopsis* durante las respuestas diferenciales del crecimiento a la luz (A) y a la gravedad (B). Las plantas fueron transformadas con el gen marcador DR5::GUS. La acumulación de auxina en el lado de la sombra (A) o en el inferior (B) de los hipocótilos viene indicada por el color azul que se muestra en los recuadros. (Fotos gentileza de Klaus Palme.) (Véanse las fotografías en color en el CD.)

produce una curvatura gravitrópica a velocidad lenta durante varias horas, incluso sin la presencia del ápice. La aplicación de IAA a la superficie cortada reestablece la velocidad de curvatura a niveles normales. Estos descubrimientos indican que la percepción del estímulo gravitacional y la redistribución lateral de las auxinas se producen en los tejidos bajo el ápice, aunque el ápice sea necesario para la producción de auxina.

La redistribución lateral de las auxinas en los meristemos apicales caulinares es más difícil de demostrar que en los coleóptilos debido a la presencia de las hojas. En los últimos años se han usado mucho los marcadores moleculares (genes marcadores) para detectar los gradientes laterales de auxina en tallos y raíces colocados horizontalmente. En hipocotilos de soja, el gravitropismo provoca una rápida asimetría por acumulación de un grupo de RNAs estimulados por auxina llamado **SAUR** (del inglés *s*mall *a*uxin *u*p-regulated *R*NAs, RNA pequeños regulados por auxina) (McClure y Guolfoyle 1989). En plántulas verticales, la expresión de los genes SAUR está distribuida simétricamente. Unos 20 minutos después de que la plántula se oriente horizontalmente, los SAUR empiezan a acumularse en la mitad inferior del hipocotilo. En estas condiciones, la curvatura gravitrópica empieza a ser evidente 45 minutos después, tras la inducción de los genes SAURs (véase el **tema web 19.8**). La existencia de un gradiente lateral en la expresión de los genes SAUR supone una evidencia indirecta de la existencia de un gradiente lateral de auxina, detectable a los 20 minutos de la estimulación gravitrópica.

Como explicaremos más adelante en este capítulo, la familia génica del *GH3* también se activa 5 minutos después del tratamiento con auxina y se ha usado como marcador molecular para detectar la presencia de ésta. Es posible visualizar el gradiente lateral de concentración de auxina que se produce tanto durante el fototropismo como durante el gravitropismo, creando una secuencia artificial basada en la fusión de la secuencia promotora del gen *GH3* al gen marcador GUS (Figura 19.29).

Los estatolitos actúan como sensores de la gravedad en tallos y raíces

A diferencia de la luz unilateral, la gravedad no forma un gradiente entre los lados superiores e inferiores de un órgano. Todas las partes de la planta están expuestas al estímulo gravitacional por igual. ¿Cómo detectan las células vegetales la gravedad? La gravedad sólo puede percibirse a través del movimiento de un cuerpo que cae o sedimenta.

Unos candidatos obvios para ser los sensores intracelulares de la gravedad en las plantas son los grandes y densos amiloplastos, presentes en muchas células vegetales. Estos amiloplastos especializados son suficientemente densos respecto del citosol como para sedimentar en la parte más baja de la célula (Figura 19.30). Los amiloplastos que funcionan como sensores de la gravedad se llaman **estatolitos** y las células especializadas en la percepción de la gravedad donde se encuentran los estatolitos reciben el nombre de **estatocitos**. Todavía queda por resolver la cuestión de si los estatocitos son capaces de detectar el movimiento descendente de los estatolitos a su paso a través del citoesqueleto o si el estímulo es percibido sólo cuando los estatolitos reposan en la parte inferior de la célula.

Tallos y coleóptilos. En los tallos y coleóptilos la gravedad es percibida en la **vaina de almidón**, una capa de células que rodea los tejidos vasculares del tallo. La vaina de almidón se continúa con la endodermis de la raíz, pero a diferencia de aquélla, la endodermis no contiene amiloplastos. Los mutantes de *Arabidopsis* que carecen de amiloplastos en la vaina de almidón muestran un crecimiento no gravitrópico del tallo, pero el crecimiento gravitrópico de la raíz es normal (Fujihira y col. 2000).

Como comentamos en el capítulo 16, los mutantes *scarecrow* (*scr*) de Arabidopsis carecen tanto de endodermis como de la vaina de almidón. En consecuencia, el hipocótilo y la inflorescencia de los mutantes *scr* son no gravitrópicos, mientras que

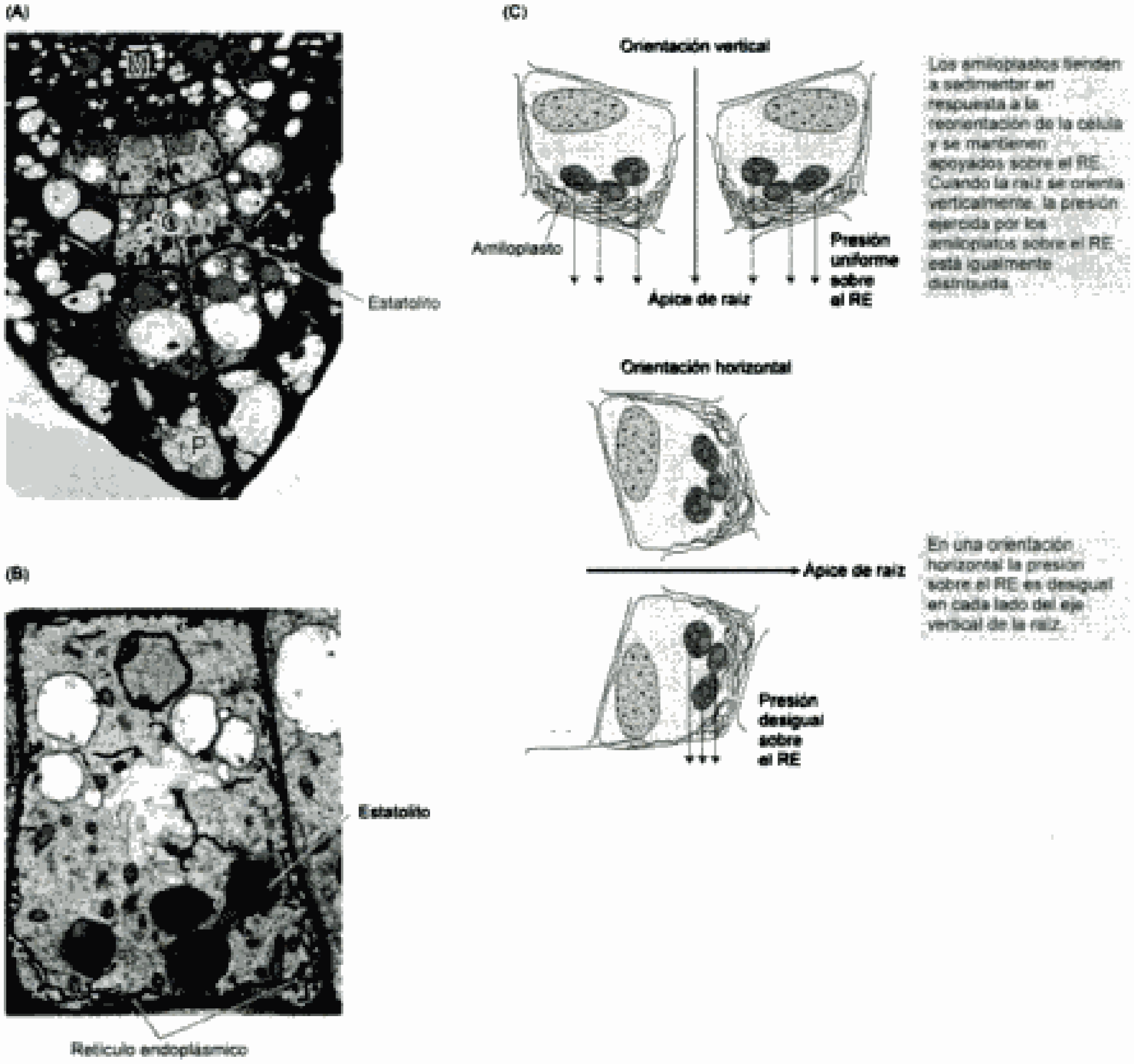

(A)
M
C
P
Estatolito
(B)
Estatolito
Retículo endoplásmico
(C)
Orientación vertical
Amiloplasto
Presión uniforme sobre el RE
Ápice de raíz
Los amiloplastos tienden a sedimentar en respuesta a la reorientación de la célula y se mantienen apoyados sobre el RE. Cuando la raíz se orienta verticalmente, la presión ejercida por los amiloplastos sobre el RE está igualmente distribuida.
Orientación horizontal
Ápice de raíz
En una orientación horizontal la presión sobre el RE es desigual en cada lado del eje vertical de la raíz.
Presión desigual sobre el RE

Figura 19.30 La percepción de la gravedad por los estatocitos de *Arabidopsis*. (A) Micrografía electrónica del ápice de la raíz, en la que se ven las células del meristemo apical (M), la columela (C) y las células periféricas (P). (B) Visión aumentada de una célula de la columela, en la que se muestran los amiloplastos apoyados sobre el retículo endoplásmico de la parte inferior de la célula. (C) Diagrama de los cambios que se producen durante la reorientación desde la posición vertical a la horizontal. (A, B gentileza del Dr. John Kiss; C basada en Sievers y col. 1996 y Volkmann y Sievers 1979.)

la raíz muestra una respuesta gravitrópica normal. A partir de los fenotipos de estos dos mutantes, podemos concluir que:

- La vaina de almidón es necesaria para el gravitropismo en los tallos.
- La endodermis radical, que no contiene estatolitos, no es necesaria para el gravitropismo en las raíces.

Raíces. El lugar de percepción de la gravedad en las raíces primarias es la cofia radical. En los estatocitos (véase la figura 19.30A y B) del cilindro central, o **colu-**

mela, de la cofia radical se encuentran grandes amiloplastos que responden a la gravedad. La eliminación de la cofia radical de las raíces intactas suprime el gravitropismo radical sin inhibir el crecimiento.

Poco se sabe acerca de la forma precisa en la que los estatocitos notan la caída de los estatolitos. Según una de las hipótesis, el contacto o la presión de los amiloplastos que reposan sobre el retículo endoplásmico en el lado inferior de la célula es lo que inicia la respuesta (véase la figura 19.30C). El retículo endoplásmico de las células de la columela es único estructuralmente, y consta de cinco a siete láminas de RE rugoso ancladas a un cilindro central nodal en espiral, como los pétalos de una flor. Este «RE nodal» especializado difiere mucho del RE tubular cortical de cisternas y podría estar implicado en la respuesta a la gravedad (Zheng y Staehelin 2001).

La **hipótesis almidón-estatolito** de la percepción de la gravedad en las raíces está apoyada por varias clases de pruebas. Los amiloplastos son los únicos orgánulos que pueden sedimentar consistentemente en las células de la columela de diferentes especies vegetales y su velocidad de sedimentación está directamente relacionada con el tiempo necesario para la percepción de la gravedad. Las respuestas gravitrópicas de los mutantes deficientes en almidón son generalmente mucho más lentas que las de las plantas silvestres. Sin embargo, los mutantes que carecen de almidón presentan cierto gravitropismo, lo que sugiere que, aunque el almidón es necesario para la respuesta gravitrópica normal, también debe de existir un mecanismo de percepción de la gravedad que sea independiente del almidón.

Otros orgánulos, como el núcleo, pueden ser suficientemente densos para actuar como estatolitos. Podría incluso no ser necesario que los estatolitos descansen en la parte inferior de la célula. La red del citoesqueleto puede ser capaz de detectar el desplazamiento vertical parcial de un orgánulo.

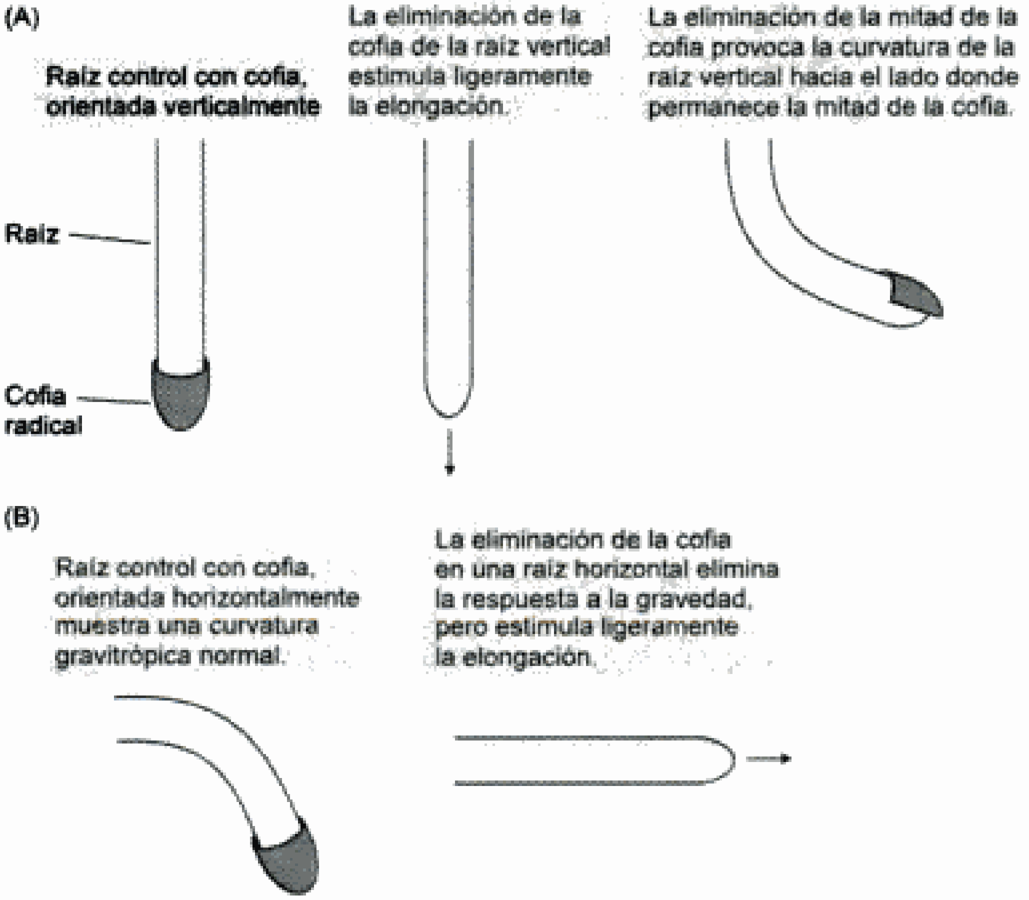
Recientemente Andrew Staehelin y sus colaboradores han propuesto un nuevo modelo para el gravitropismo llamado **modelo de la tensegridad** (Poder y col. 2001). La *tensegridad es un término arquitectónico*, contracción de *integridad tensional*, acuñado por el arquitecto innovador R. Buckminster Fuller. En esencia, la *tensegridad* se refiere a la integridad estructural creada por la tensión interactiva entre los componentes estructurales. En este caso, los componentes estructurales son la red de microfilamentos de actina que forma parte del citoesqueleto de las células de la columela de la cofia radical. Se supone que la red de actina está anclada a receptores activados por el estiramiento en la membrana plasmática. Los receptores del estiramiento de las células animales son canales iónicos mecanosensibles y en plantas se ha demostrado la existencia de canales de calcio activados por estiramiento.

De acuerdo con el modelo de la tensegridad, la sedimentación de los estatolitos a través del citosol interrumpe localmente la red de actina, lo que cambia la distribución de la tensión transmitida a los canales de calcio en la membrana plasmática, y altera así sus actividades. Yoder y sus colaboradores (2001) han propuesto además que el RE nodal, que también está conectado a los canales a través de los microfilamentos de actina, podría proteger el citoesqueleto de ser interrumpido por los estatolitos en regiones específicas, y proporcionar así una señal para la direccionalidad del estímulo.

¿Es posible la percepción de la gravedad sin estatolitos? Para el alga gigante *Chara* se ha propuesto un mecanismo alternativo de percepción de la gravedad que no implica los estatolitos. Para más detalles, véase el **tema web 19.8**.

La auxina está distribuida lateralmente en la cofia radical

Además de proteger las células sensibles del ápice caulinar a medida que la raíz penetra en el suelo, la cofia radical es el sitio de percepción de la gravedad. Como la cofia está a una cierta distancia de la zona de elongación donde se produce la curvatura, debe de existir un segundo mensajero implicado en la comunicación entre la



Raíz control con cofia, orientada verticalmente

La eliminación de la cofia de la raíz vertical estimula ligeramente la elongación.

La eliminación de la mitad de la cofia provoca la curvatura de la raíz vertical hacia el lado donde permanece la mitad de la cofia.

Raíz control con cofia, orientada horizontalmente muestra una curvatura gravitrópica normal.

La eliminación de la cofia en una raíz horizontal elimina la respuesta a la gravedad, pero estimula ligeramente la elongación.

Figura 19.31 Microexperimentos que demuestran que la cofia radical produce un inhibidor que regula el gravitropismo radical. (Según Shaw y Wilkins 1973.)

cofia radical y la zona de elongación. Mediante micromanipulaciones en las que se ha eliminado la mitad de la cofia de la raíz se ha demostrado que ésta produce un inhibidor del crecimiento radical (Figura 19.31). Estos descubrimientos sugieren que la cofia aporta un inhibidor al lado inferior de la raíz durante la curvatura gravitrópica.

Aunque las cofias radicales contienen pequeñas cantidades de IAA y de ácido abscísico (ABA) (véase el capítulo 23), el IAA tiene un poder inhibidor mayor que el ABA sobre el crecimiento radical cuando se aplica directamente a la zona de elongación, lo que sugiere que el IAA es el inhibidor de la cofia radical. Corroborando esta conclusión, los mutantes de *Arabidopsis* deficientes en ABA tienen un crecimiento gravitrópico normal, mientras que las raíces de los mutantes que son defectuosos en el trasporte de auxina, como *aux1* y *agr1*, son agravitrópicos (Palme y Gälweiler 1999). Los mutantes *agr* carecen de una proteína transportadora de auxina hacia el exterior relacionada con las proteínas PIN (Chen y col. 1998; Müller y col. 1998; Utsuno y col. 1998). La proteína AGR1 está localizada en el extremo basal (distal) de las células corticales, cerca del ápice de la raíz en *Arabidopsis*.

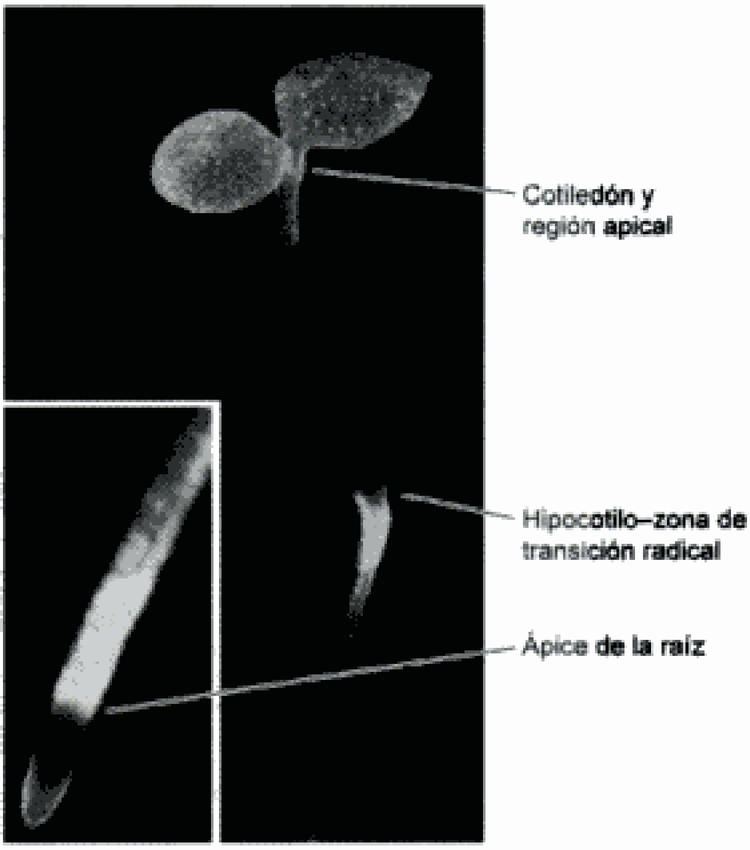
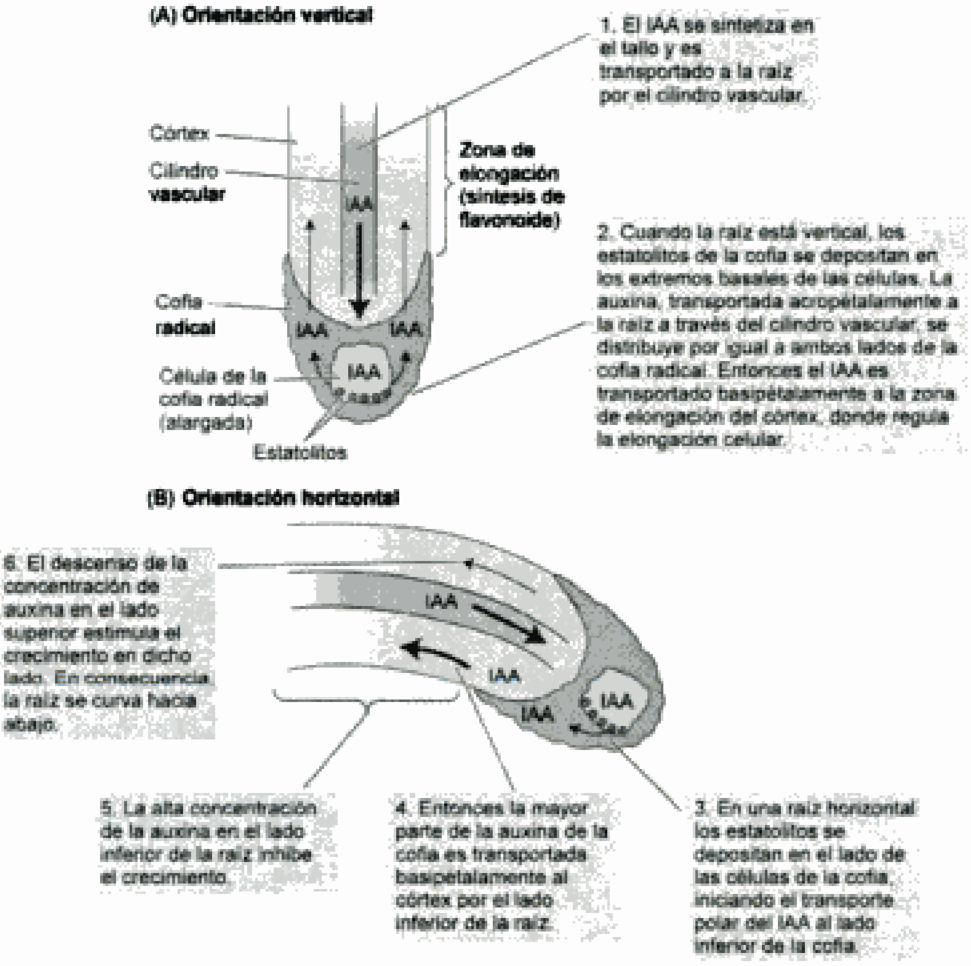


Figura 19.32 Localización de flavonoides en una plántula de *Arabidopsis* de 6 días. El procedimiento de tinción usado provoca fluorescencia en los flavonoides. Los flavonoides se concentran en tres regiones: los cotiledones y la región apical, la zona de transición hipocótilo-raíz y el área del ápice radicular (recuadro). En el ápice de la raíz, los flavonoides se localizan específicamente en la zona de elongación y en la cofia, los tejidos implicados en el transporte basipétalo de auxinas. (Según Murphy y col. 2000.)

¿Cómo se puede conciliar el hecho de que el meristemo apical caulinar sea la fuente primaria de auxina de la raíz con la función de la cofia radical como fuente de la auxina inhibidora durante el gravitropismo? Como explicamos antes, la auxina del tallo es transportada desde el cilindro vascular al ápice de la raíz a través de las células del protofloema. Las permeasas AUX1, distribuidas asimétricamente en las células parenquemáticas del protofloema, dirigen el transporte acropétalo de auxina desde el floema a las células agrupadas en la columnela de la cofia. Las auxinas se transportan entonces radialmente hasta las células de la cofia de las raíces laterales, donde AUX1 se expresa mucho (véase la figura 19.19).

Las células de la cofia de las raíces laterales cubren la zona de elongación distal (DEZ) de la raíz, la primera región que responde a la gravedad. Las auxinas de la cofia son incorporadas por el parénquima cortical de la DEZ y transportadas basipétalamente a través de la zona de elongación de la raíz. El transporte basipétalo, limitado a la zona de elongación, está facilitado por las proteínas transportadoras de auxina aniónica, relacionadas con las proteínas de la familia PIN (llamadas AGR1), que es-


(A) Orientación vertical
Córtex
Cilindro vascular
IAA
Zona de elongación (síntesis de flavonoide)
Cofia radical
IAA
IAA
IAA
Célula de la cofia radical (alargada)
Estatolitos
(B) Orientación horizontal
IAA
IAA
IAA
IAA

1. El IAA se sintetiza en el tallo y es transportado a la raíz por el cilindro vascular.

2. Cuando la raíz está vertical, los estatolitos de la cofia se depositan en los extremos basales de las células. La auxina, transportada acropétalamente a la raíz a través del cilindro vascular, se distribuye por igual a ambos lados de la cofia radical. Entonces el IAA es transportado basipétalamente a la zona de elongación del córtex, donde regula la elongación celular.

6. El descenso de la concentración de auxina en el lado superior estimula el crecimiento en dicho lado. En consecuencia la raíz se curva hacia abajo.

5. La alta concentración de la auxina en el lado inferior de la raíz inhibe el crecimiento.

4. Entonces la mayor parte de la auxina de la cofia es transportada basipétalamente al córtex por el lado inferior de la raíz.

3. En una raíz horizontal los estatolitos se depositan en el lado de las células de la cofia, iniciando el transporte polar del IAA al lado inferior de la cofia.

Figura 19.33 Modelo propuesto para la redistribución de la auxina durante el gravitropismo en las raíces de maíz. (Según Hasenstein y Evans 1988.)

tán localizadas en los extremos basales de las células parenquimáticas corticales.

La auxina transportada basipétalamente se acumula en la zona de elongación y no va más allá. En esta región de la raíz se sintetizan los flavonoides capaces de inhibir la salida de las auxinas y que, probablemente, promueven la retención de auxina en estas células (Figura 19.32) (Murphy y col. 2000).

De acuerdo con este modelo, el transporte basipétalo de auxinas en las raíces orientadas verticalmente es igual en ambos lados (Figura 19.33A). Sin embargo, cuando las raíces están colocadas horizontalmente, la cofia redistribuye lateralmente la masa de auxina hacia el lado inferior, de manera que inhibe el crecimiento en dicho lado (véase la figura 19.33B). De acuerdo con esta idea, el transporte de [^{3}H]IAA a través de una cofia radical orientada horizontalmente es polar, con una curvatura preferente hacia abajo (Young y col. 1990).

PIN3 se redistribuye lateralmente hacia el lado inferior de las células de la columela de la raíz

Recientemente se ha descubierto el mecanismo de redistribución lateral de las auxinas en la cofia radical (Firml y col. 2002). Uno de los miembros de la familia PIN, proteínas exportadoras de auxina, la PIN3, no sólo es necesaria para el foto- y el gravitropismo en *Arabidopsis*, sino que se ha demostrado que durante el gravitropismo radical se resitúa en el lado inferior de las células de la columela (Figura 19.34).

Como se dijo anteriormente, las proteínas PIN están constantemente siendo recirculadas entre la membrana plasmática y los compartimentos intracelulares secretores. Esta recirculación permite el envío de algunas proteínas PIN a lugares

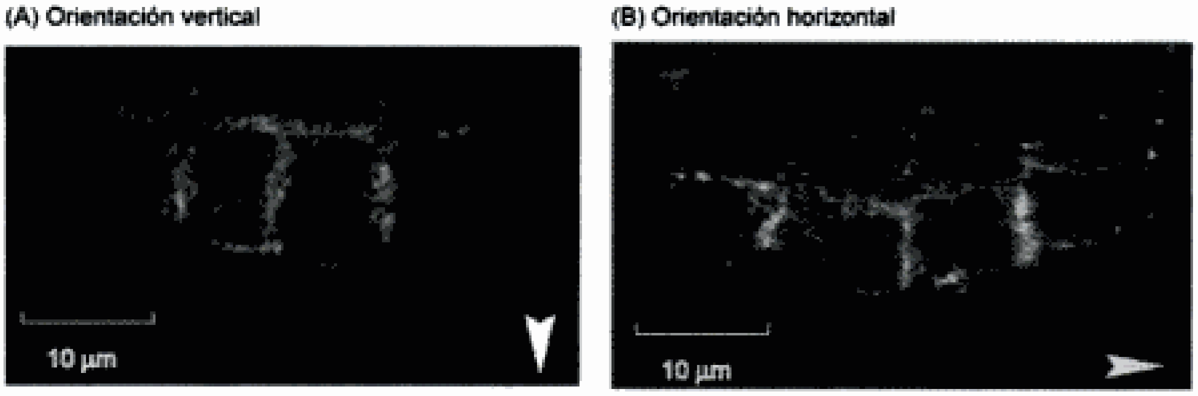


Figura 19.34 Relocalización de la proteína transportadora de auxinas PIN3 durante el gravitropismo radical en *Arabidopsis*. (A) En una raíz orientada verticalmente, PIN3 está uniformemente distribuida alrededor de las células de la columela. (B) Después de orientar la raíz horizontalmente durante 10 minutos, PIN3 se localiza en el lado inferior de las células de la columela. La foto en (B) ha sido reorientada de forma que el lado inferior está a la derecha. (La dirección de la gravedad viene indicada por la punta de flecha.) (Según Friml y col. 2002, gentileza de Klaus Palme.)

específicos de la célula en respuesta a un estímulo direccional. En una raíz orientada verticalmente, PIN3 está uniformemente distribuido alrededor de las células de la columela (véase la figura 19.34A). Pero cuando la raíz se coloca horizontalmente, PIN3 se dirige preferentemente al lado inferior de la células (véase la figura 19.34B). En consecuencia, la auxina es transportada polarmente a la mitad inferior de la cofia.

La sensibilidad a la gravedad parece tener al calcio y al pH como segundos mensajeros

Diversos experimentos en maíz sugieren que es necesario el sistema calcio-calmodulina para el gravitropismo radical. Algunos de estos experimentos se han realizado con EGTA (ácido etilenglicol-bis(β-aminoetiléter)-N,N,N',N'-tetraacético), un componente que puede actuar como quelato (formar un complejo) con los iones calcio, y evitar así la incorporación de calcio en las células. El EGTA inhibe el gra-

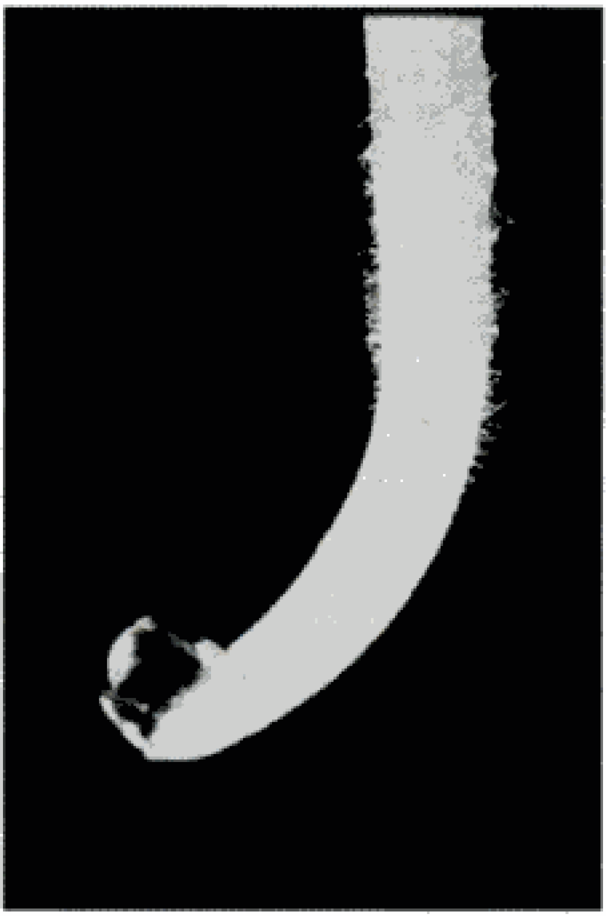


Figura 19.35 La raíz de maíz se dobla hacia un bloque de agar colocado en el ápice que contiene calcio. (Gentileza de Michael L. Evans.)

vitropismo radical y la distribución asimétrica de las auxinas en respuesta a la gravedad (Young y Evans 1994).

Si colocamos un bloque de agar que contiene iones calcio en un lado de la cofia de una raíz de maíz orientada verticalmente se induce el crecimiento radical hacia el lado donde está el bloque con agar (Figura 19.35). Como en el caso del [^{3}H]IAA, el $^{45}Ca^{2+}$ es transportado polarmente a la mitad inferior de la cofia de una raíz estimulada por la gravedad. Sin embargo, no se han detectado cambios en la distribución del calcio intracelular en las células de la columela en respuesta al estímulo gravitacional.

Hay evidencias recientes que sugieren que el cambio en el pH intracelular es el primer cambio detectable en las células de la columela en respuesta a la gravedad. Fassano y col. (2001) usaron colorantes sensibles al pH para realizar un seguimiento del pH intracelular y extracelular en raíces de *Arabidopsis* que se habían colocado en posición horizontal. Tras una estimulación gravitrópica de 2 minutos, el pH citoplásmico de las células de la columela de la cofia radical aumentó de 7,2 a 7,6 y el pH apoplástico disminuyó de 5,5 a 4,5. Estos cambios precedieron en unos 10 minutos cualquier curvatura trópica detectable.

La alcalinización del citosol junto con la acidificación del apoplasto sugiere que la activación de la H^+-ATPasa de la membrana plasmática es uno de los acontecimientos iniciales que median la percepción de la gravedad radical o la transducción de señal.

EFECTOS DE LAS AUXINAS SOBRE EL DESARROLLO

Las auxinas influyen en casi todos los estados del ciclo vital de las plantas desde la germinación a la senescencia, aunque originalmente fueron descubiertas en relación con el crecimiento. Como el efecto de las auxinas depende de la identidad del tejido diana, la respuesta de un tejido a las auxinas está guiada por su programa de desarrollo determinado genéticamente y se ve influida por la presencia o ausencia de otras moléculas de señalización. Como veremos en este y en los siguientes capítulos, la interacción entre dos o más hormonas es un tema recurrente en el desarrollo vegetal.

En esta sección examinaremos algunos procesos del desarrollo regulados por auxinas, como la dominancia apical, la abscisión de las hojas, la formación de raíces laterales y la diferenciación vascular. En toda la explicación asumiremos que el mecanismo principal de acción de las auxinas es comparable en todos lo casos, e implica receptores y rutas de transducción de señal similares. El estado actual de conocimiento de las rutas de señalización será considerado al final de este capítulo.

Las auxinas regulan la dominancia apical

En la mayoría de las plantas superiores, el crecimiento de la yema apical inhibe el crecimiento de las yemas laterales (axilares), un fenómeno conocido como **dominancia apical**. La eliminación del brote apical (decapitación) normalmente da lugar al crecimiento de una o más yemas laterales. No mucho después del descubrimiento de las auxinas se encontró que el IAA podría sustituir a la yema apical en el mantenimiento de la inhibición de las yemas laterales de plantas de judía (*Phaseolus vulgaris*). Este experimento clásico se ilustra en la figura 19.36.

Pronto se confirmó este resultado en numerosas especies vegetales, lo que condujo a la hipótesis de que la emergencia de las yemas axilares estaba inhibida por la

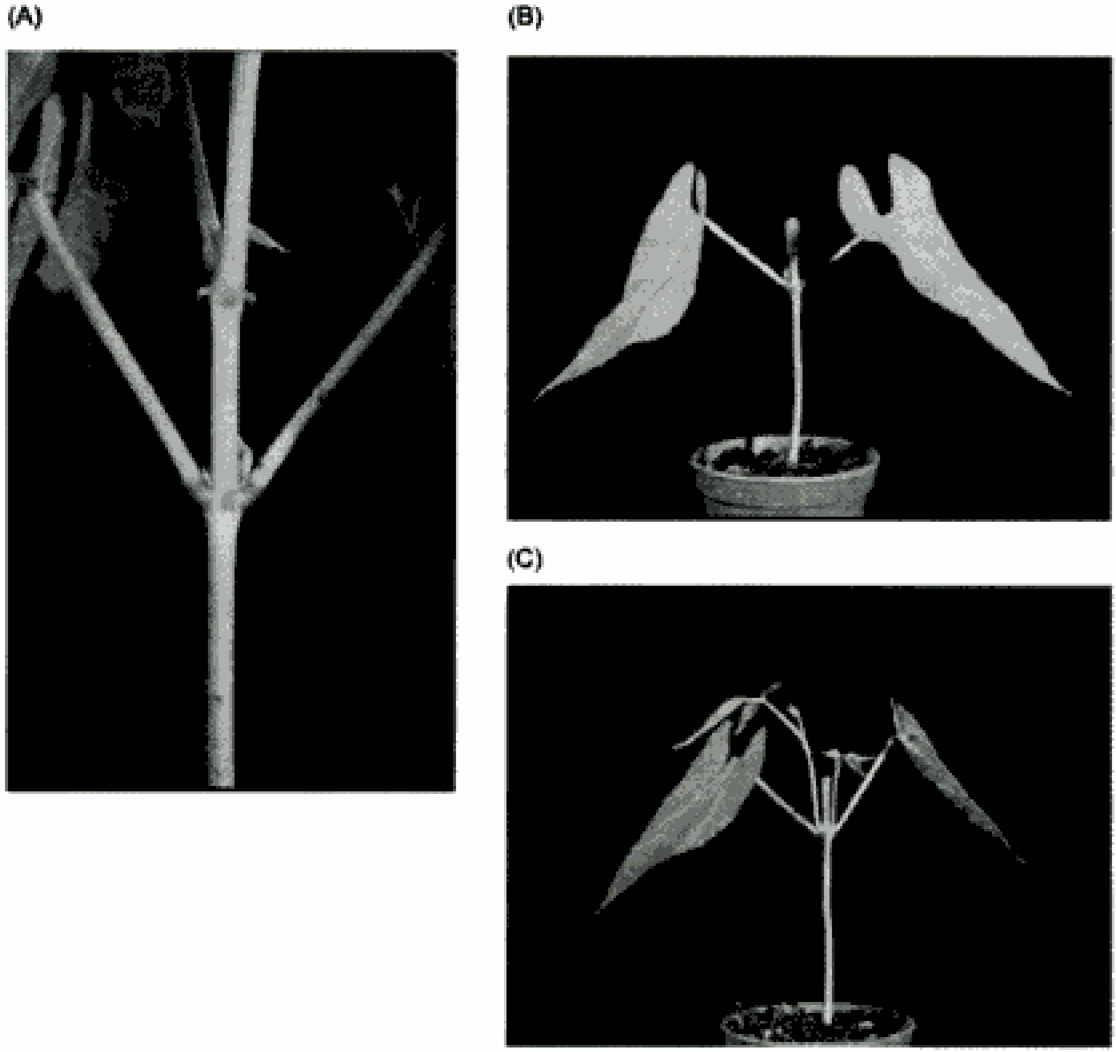


Figura 19.36 Las auxinas suprimen el crecimiento de las yemas axilares en plantas de judía (*Phaseolus vulgaris*). (A) La supresión de las yemas axilares en las plantas intactas es debida a la dominancia apical. (B) La eliminación de las yemas terminales libera a las yemas axilares de la dominancia apical (flechas). (C) La aplicación de IAA en pasta de lanolina (contenida en una cápsula de gelatina) sobre la superficie cortada evita la emergencia de las yemas axilares. (Fotos © M. B. Wilkins.)

auxina, que era transportada basipétalamente desde la yema apical. En apoyo de esta idea, un anillo del inhibidor del transporte de auxina (TIBA) embebido en una pasta de lanolina colocado bajo el ápice caulinar, liberaba a las yemas axilares de la inhibición.

¿Cómo pueden las auxinas del ápice caulinar contribuir a la inhibición del crecimiento de las yemas laterales? Inicialmente, Kenneth V. Thimann y Folke Skoog propusieron que las auxinas del ápice caulinar inhiben el crecimiento de la yema axilar directamente (*modelo de inhibición directa*). De acuerdo con este modelo, la concentración óptima de auxina para el crecimiento de la yema es baja, mucho menor que la que se encuentra normalmente en el tallo. Se pensó que los elevados niveles de auxina encontrados en el tallo tenían la función de inhibir el crecimiento de las yemas laterales.

Si el modelo de inhibición directa de la dominancia apical es correcto, la concentración de auxinas en las yemas axilares tendría que disminuir al decapitar el ápice caulinar. Sin embargo, parece ser que ocurre lo contrario. Esto se demostró utilizando plantas transgénicas que contenían los genes marcadores de la luciferasa bacteriana (*LUXA* y *LUXB*) bajo el control del promotor de respuesta de la auxina (Langridge y col. 1989). Estos genes marcadores permitieron a los investigadores estudiar el nivel de auxinas en diferentes tejidos, siguiendo la cantidad de luz emitida en la reacción catalizada por la luciferasa.

Cuando estas plantas transgénicas fueron decapitadas, la expresión de los genes *LUX* aumentó en las yemas axilares y alrededor de ellas durante las 12 horas siguientes. Este experimento indicaba que, después de la decapitación, el contenido de auxinas de las yemas axilares *aumentaba* en lugar de disminuir.

Las mediciones directas de los niveles de auxinas en las yemas también mostraron un aumento de esta hormona en las yemas axilares tras la decapitación. En *Phaseolus vulgaris* (judía), los niveles de IAA aumentaron cinco veces en las primeras cuatro horas posteriores a la decapitación (Gora y col. 1991). Estos y otros resultados similares hacen muy improbable que las auxinas del ápice caulinar inhiban de manera directa las yemas axilares.

Puede haber implicadas otras hormonas, como las citoquininas y el ABA. De hecho, la aplicación directa de citoquininas a las yemas axilares estimula el crecimiento de la yema en muchas especies, superando el efecto inhibidor del ápice caulinar. Las auxinas hacen que el ápice caulinar actúe como un sumidero de las citoquininas sintetizadas en la raíz y éste puede ser uno de los factores implicados en la dominancia apical (véase el **tema web 19.10**).

Finalmente, se ha encontrado ABA en las yemas laterales latentes de plantas intactas. Cuando el ápice caulinar se elimina, los niveles de ABA en las yemas laterales disminuyen. Los altos niveles de IAA en el brote podrían ayudar a mantener niveles altos de ABA en las yemas laterales. La eliminación del ápice elimina una fuente importante de IAA, lo que permite que los niveles del inhibidor del crecimiento de las yemas caigan (véase el **tema web 19.11**).

Las auxinas promueven la formación de las raíces laterales y adventicias

Aunque la elongación de la raíz principal se inhibe a concentraciones de auxina superiores a 10^{-8} M, la formación de las raíces (o ramificaciones) laterales y las raíces adventicias se estimula con niveles elevados de auxina. Las raíces laterales se encuentran normalmente sobre la zona de elongación y de los pelos radicales y se originan a partir de pequeños grupos de células en el periciclo (véase el capítulo 16). Las au-

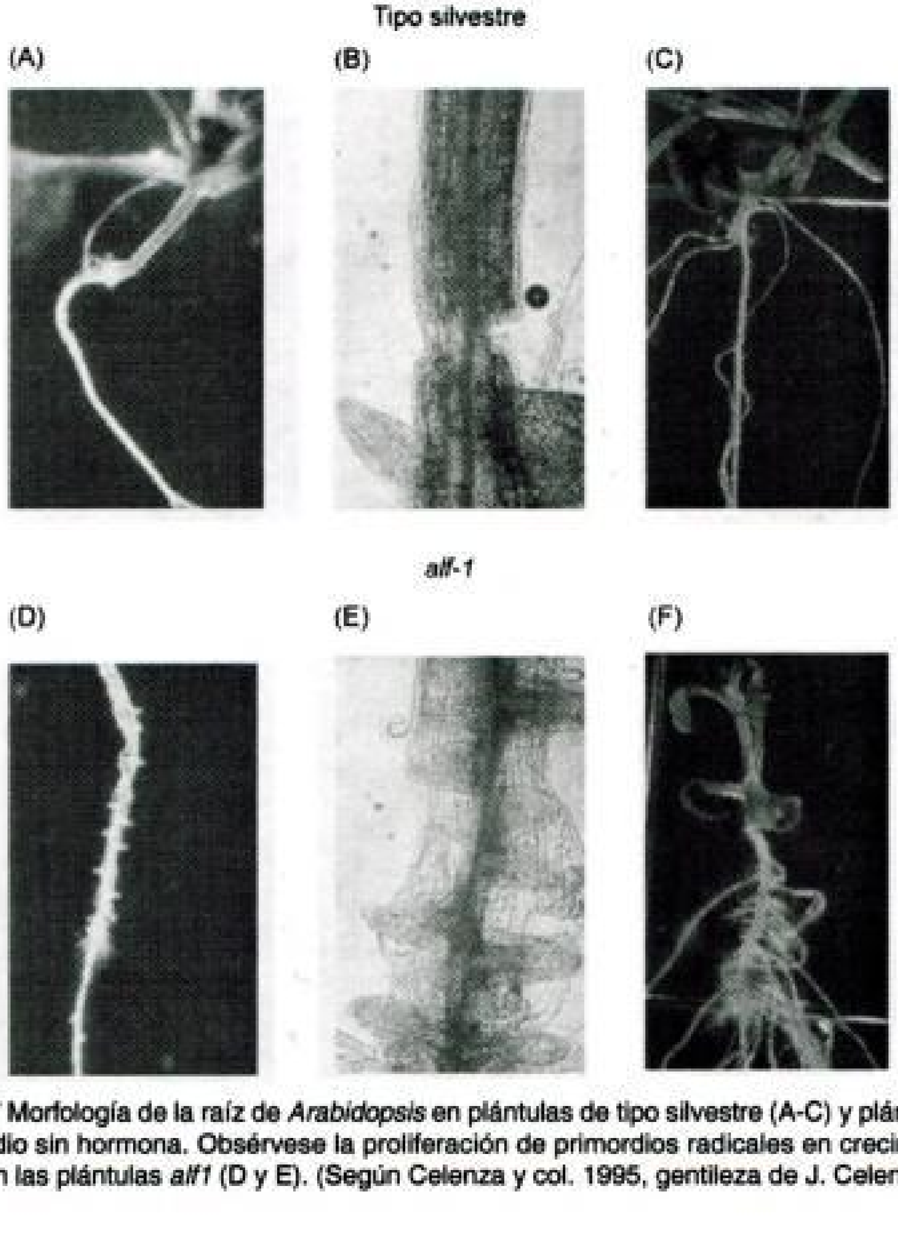


Figura 19.37 Morfología de la raíz de *Arabidopsis* en plántulas de tipo silvestre (A-C) y plántulas *alf1* (D-F) en un medio sin hormona. Obsérvese la proliferación de primordios radicales en crecimiento desde el periciclo en las plántulas *alf1* (D y E). (Según Celenza y col. 1995, gentileza de J. Celenza.)

xinas estimulan la división de estas células. Las células en división forman gradualmente el ápice de la raíz y las raíces laterales crecen a través del córtex y la epidermis.

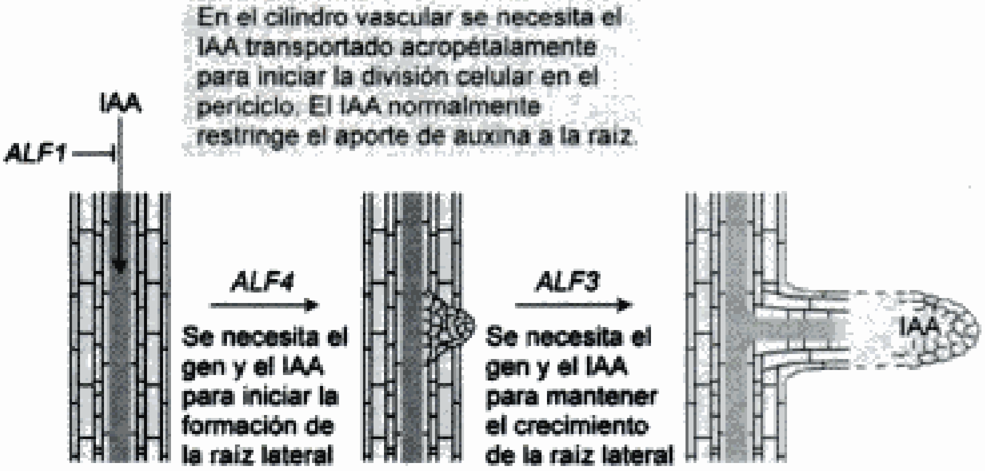
Las raíces adventicias (raíces que se originan de tejido no radical) pueden surgir en una serie de localizaciones tisulares a partir de grupos de células maduras que renuevan su actividad de división celular. Estas células en división se convierten en meristemos apicales de la raíz de modo análogo a la formación de las raíces laterales. En horticultura, el efecto estimulador de la auxina en la formación de raíces adventicias ha sido utilizado con éxito para la propagación vegetativa por esquejes.

Una serie de mutantes de *Arabidopsis*, nombrados como *alf* (del inglés *a*berrant *l*ateral root *f*ormation, formación de raíces laterales aberrantes), han proporcionado algunas pistas sobre la función de la auxina en el inicio de las raíces laterales. El mutante *alf1* muestra una proliferación extrema de raíces adventicias y laterales, junto con un aumento de 17 veces de la concentración endógena de auxina (Figura 19.37).

Otro mutante, el *alf4*, tiene el fenotipo contrario: carece completamente de raíces laterales. El análisis microscópico de las raíces de *alf4* mostró la ausencia del primordio de las raíces laterales. El fenotipo *alf4* no puede ser revertido por aplicación de IAA exógeno.

Y otro mutante, el *alf3*, es defectivo en el desarrollo del primordio en raíces laterales maduras. La raíz principal está cubierta de primordios de raíces laterales detenidos que crecen hasta formar una protuberancia que atraviesa la capa de células epidérmicas y entonces su crecimiento se detiene. Este crecimiento detenido puede ser revertido por aplicación de IAA exógeno.

Sobre la base de los fenotipos de los mutantes *alf* se ha propuesto un modelo en el que se necesita el IAA al menos en dos etapas de la formación de las raíces laterales (Figura 19.38) (Celenza y col. 1995):


En el cilindro vascular se necesita el IAA transportado acropétalamente para iniciar la división celular en el periciclo. El IAA normalmente restringe el aporte de auxina a la raíz.

Se necesita el gen y el IAA para iniciar la formación de la raíz lateral

Se necesita el gen y el IAA para mantener el crecimiento de la raíz lateral

Figura 19.38 Un modelo para la formación de las raíces laterales, basado en los mutantes *alf1* de *Arabidopsis*. (Según Celenza y col. 1995.)

1. Se necesita el IAA transportado acropétalamente (hacia el ápice) en el cilindro vascular para iniciar la división celular en el periciclo.
2. Se necesita el IAA para promover la división celular y mantener la viabilidad de las células durante el desarrollo de las raíces laterales.

Las auxinas retrasan el inicio de la abscisión de las hojas

La caída de las hojas, las flores y los frutos de las plantas vivas se conoce con el nombre de **abscisión**. La abscisión se produce en una región llamada **zona de abscisión**, que está localizada cerca de la base del pecíolo de las hojas. En la mayoría de las plantas, la abscisión de las hojas viene precedida por la diferenciación de una capa particular de células, la **capa de abscisión**, en la zona de abscisión. Durante la senescencia de las hojas, las paredes de las células en la capa de abscisión son digeridas, lo que hace que se vuelvan suaves y débiles. La hoja al final se parte en la capa de abscisión debido a la tensión sobre las paredes celulares debilitadas.

Los niveles de auxinas son altos en las hojas jóvenes, disminuyen progresivamente en las hojas maduras y son relativamente bajos en las hojas senescentes. El papel de la auxina en la abscisión puede demostrarse fácilmente si se elimina el limbo de una hoja madura y se deja el pecíolo intacto en el tallo. Mientras que la eliminación del limbo de la hoja acelera la formación de la capa de abscisión en el pecíolo, la aplicación de auxina embebida en pasta de lanolina sobre la superficie del pecíolo evita la formación de dicha capa de abscisión. (La pasta de lanolina por sí dola no evita la abscisión.)

Estos resultados sugieren que:

- La auxina transportada desde el limbo evita la abscisión.
- La abscisión se inicia durante la senescencia de la hoja cuando la auxina no se está produciendo en grandes cantidades.

Sin embargo, como explicaremos en el capítulo 22, el etileno juega un papel crucial como regulador positivo de la abscisión.

El transporte de auxinas regula el desarrollo floral de las yemas

El tratamiento de plantas de *Arabidopsis* con el inhibidor del transporte de auxinas NPA provoca un desarrollo floral anormal, lo que sugiere que el transporte polar de auxinas al meristemo de inflorescencia es necesario para el desarrollo floral normal. En *Arabidopsis*, el mutante «wn forma de pino» *pin1*, que carece de la proteína exportadora de auxina, tiene flores anormales, similares a las de las plantas tratadas con NPA (véase la figura 19.14A). Aparentemente, el desarrollo del meristemo floral depende de que la auxina sea transportada hasta él desde los tejidos subapicales. En ausencia de proteínas exportadoras, el meristemo carece de auxina y se interrumpe la filotaxis y el desarrollo floral normal (Kuhlemeier y Reinhardt 2001).

Las auxinas regulan el desarrollo del fruto

Existen numerosas evidencias que sugieren que las auxinas están implicadas en la regulación del desarrollo del fruto. Las auxinas se producen en el polen y en el endospermo y el embrión de semillas en desarrollo y es posible que el estímulo necesario para el crecimiento del fruto sea consecuencia de la polinización.

Una polinización satisfactoria inicia el crecimiento del óvulo, es lo que se conoce como **cuajado del fruto**. Tras la fertilización, el desarrollo del fruto puede depender de las auxinas producidas en las semillas en desarrollo. El endospermo puede aportar las auxinas durante la primera etapa del desarrollo del fruto y el embrión en desarrollo puede sustituirlo como fuente principal de auxinas durante etapas posteriores.

La figura 19.39 muestra la influencia de las auxinas producidas en los aquenios de fresa en el crecimiento del receptáculo de la fresa.

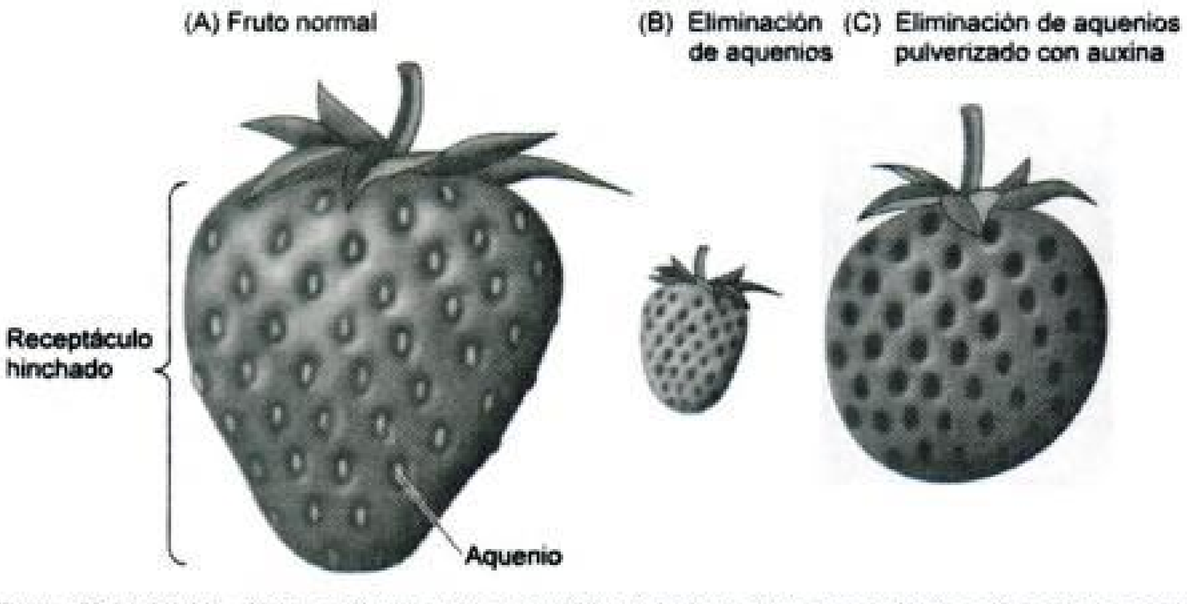

(A) Fruto normal
(B) Eliminación de aquenios
(C) Eliminación de aquenios pulverizado con auxina
Receptáculo hinchado
Aquenio

Figura 19.39 (A) Un «fruto» de fresa es un receptáculo hinchado cuyo crecimiento está regulado por la auxina producida por las «semillas», que son en realidad los verdaderos frutos aquénicos. (B) Cuando se eliminan los aquenios, el receptáculo no tiene un desarrollo normal. (C) Pulverizando el receptáculo sin aquenios con IAA se reestablece el crecimiento y el desarrollo normal. (Según A. Galston 1994.)

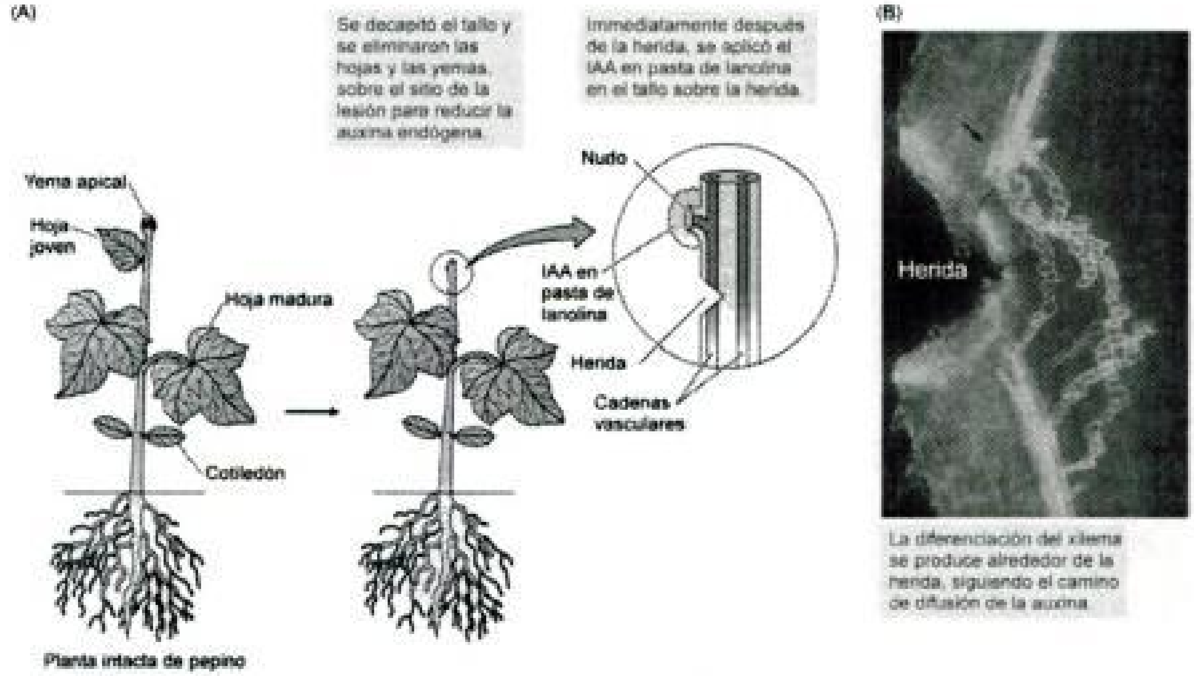
Las auxinas inducen la diferenciación vascular

Los nuevos tejidos vasculares se diferencian directamente debajo de las yemas y las hojas jóvenes en crecimiento (véase la figura 19.5) y la eliminación de las hojas jóvenes evita la diferenciación vascular (Aloni 1995). La capacidad de una yema apical de estimular la diferenciación vascular puede demostrarse mediante el cultivo tisular. Cuando una yema se injerta en un grupo de células indiferenciadas, o *callo*, el xilema y el floema se diferencian debajo del injerto.

Las cantidades relativas de xilema y floema formadas están reguladas por la concentración de auxina: una concentración alta induce la diferenciación del xilema y el floema, pero a concentraciones bajas de auxina sólo se diferencia el floema. Del mismo modo, los experimentos en tejidos de tallo han mostrado que las concentraciones bajas de auxina inducen la diferenciación del floema, mientras que niveles mayores de IAA inducen el xilema (Aloni 1995).

La regeneración del tejido vascular posterior a una lesión está controlada por las auxinas producidas por la hoja joven directamente sobre el sitio de la herida (Figura 19.40). La eliminación de la hoja evita la regeneración del tejido vascular y la aplicación de auxina puede sustituirse a la hoja en la estimulación de la regeneración.

La diferenciación vascular es polar y se produce desde las hojas a las raíces. En leñosas perianuales, las auxinas producidas por las yemas en crecimiento en prima-



Se decapitó el tallo y se eliminaron las hojas y las yemas, sobre el sitio de la lesión para reducir la auxina endógena.

Inmediatamente después de la herida, se aplicó el IAA en pasta de lanolina en el tallo sobre la herida.

La diferenciación del xilema se produce alrededor de la herida, siguiendo el camino de difusión de la auxina.

Figura 19.40 Regeneración del xilema inducida por IAA alrededor de la herida en un tejido del tallo de pepino (*Cucumis sativus*). (A) Método para llevar a cabo el experimento de regeneración de la herida. (B) Micrografía de fluorescencia en la que se muestra la regeneración del tejido vascular alrededor de la herida. (B gentileza de R. Aloni.)

vera estimula la activación del cambium en dirección basipétala. El nuevo anillo de crecimiento secundario empieza en las ramitas más pequeñas y avanza hacia abajo hacia el ápice de la raíz.

Existen otras evidencias sobre el papel de las auxinas en la diferenciación vascular que proceden de los estudios en los que la concentración de auxina se ha manipulado por transformación de las plantas con los genes de la biosíntesis de auxina usando el plásmido *Ti* de *Agrobacterium*. Cuando un gen de la biosíntesis de auxinas se sobreexpresa en plantas de petunia, el número de elementos traqueales del xilema aumenta. Por el contrario, cuando el nivel de IAA libre en plantas de tabaco se reduce por la transformación con un gen codificante de un enzima que conjuga el IAA al aminoácido lisina, el número de elementos de los vasos disminuye y aumenta su tamaño (Romano y col. 1991). Así, el nivel de auxina libre parece regular el número de elementos traqueales, así como su tamaño.

En cultivos de células de mesofilo de *Zinnia elegans*, las auxinas son necesarias para la diferenciación de las células traqueales, pero las citoquininas también participan, quizás aumentando la sensibilidad de las células a las auxinas. Mientras que las auxinas se producen en el tallo y se transportan hacia la raíz, las citoquininas son producidas en los ápices radiculares y transportadas hacia el tallo. Probablemente ambas hormonas están implicadas en la regulación de la activación del cambium y en la diferenciación vascular (véase el capítulo 21).

Las auxinas sintéticas tienen una gran variedad de usos comerciales

Las auxinas se han usado comercialmente en agricultura y horticultura desde hace más de 50 años. Los primeros usos comerciales fueron la prevención de la caída de frutos y hojas, la estimulación de la floración en piña, la inducción de frutos partenocárpicos, el engorde de la fruta y el enraizamiento de esquejes para la propagación de la planta. El enraizamiento mejora si la hoja escindida o el tallo cortado se sumerge en una solución de auxinas, que promueven el inicio de las raíces adventicias en el extremo cortado. Ésta es la base comercial de los compuestos enraizantes, productos que constan de una mezcla de auxinas sintéticas con talco en polvo.

En algunas especies vegetales, las frutas sin semillas pueden ser producidas naturalmente o por tratamiento de las flores no polinizadas con auxina. La producción de dicho tipo de frutas sin semillas se denomina **partenocarpia**. En la estimulación de la formación de frutos partenocárpicos, la auxina parece actuar principalmente induciendo el cuajado del fruto. El cuajado dispara la posterior producción de auxina endógena por parte de ciertos tejidos del fruto para completar el proceso de desarrollo.

El etileno también está implicado en el desarrollo del fruto y algunos de los efectos de la auxina sobre el fruto pueden ser el resultado de la estimulación de la síntesis del etileno. En el capítulo 22 se hablará del control del etileno en el manejo comercial del fruto.

Además de estas aplicaciones, hoy en día las auxinas están muy extendidas como herbicidas. Los compuestos químicos 2,4-D y dicamba (véase la figura 19.4) son, probablemente, las auxinas sintéticas de mayor uso. Las auxinas sintéticas son muy efectivas porque no son metabolizadas por la planta tan rápidamente como el IAA. Como el maíz y otras monocotiledóneas pueden inactivar rápidamente las auxinas sintéticas por conjugación, estas auxinas son usadas por los agricultores para evitar el crecimiento de las malas hierbas dicotiledóneas en los campos comerciales de cereales y por los jardineros familiares para el control de las malas hierbas como el diente de león y las margaritas.

LAS RUTAS DE TRANSDUCCIÓN DE LA SEÑAL DE LAS AUXINAS

El objetivo final de la investigación del mecanismo molecular de la acción de una hormona es reconstruir cada etapa de la ruta de transducción de señal, desde la unión al receptor hasta la respuesta fisiológica. En la última sección de este capítulo, examinaremos los candidatos a receptor de auxinas y analizaremos las diferentes rutas de señalización implicadas en la acción de las auxinas. Finalmente, prestaremos atención a la expresión génica regulada por auxinas.

La ABP1 funciona como receptor de las auxinas

Además de su posible participación directa en la activación de la H^+-ATPasa de la membrana plasmática (estudiada anteriormente), la proteína de unión de auxina ABP1 parece funcionar como un receptor de auxina en otras rutas de transducción de señal. Se han identificado homólogos de ABP1 en toda una serie de especies de monocotiledóneas y dicotiledóneas (Venis y Napier 1997). El bloqueo del gen ABP1 en *Arabidopsis* es letal y mutaciones menos graves han dado lugar a un desarrollo alterado (Chen y col. 2001). Estudios recientes indican que, a pesar de estar localizada principalmente en el retículo endoplásmico (RE), una pequeña cantidad de ABP1 se secreta a la superficie exterior de la membrana plasmática donde interacciona con las auxinas para provocar el hinchamiento de los protoplastos y el bombeo de H^+ (Venis y col. 1996; Steffens y col. 2001).

Sin embargo, es improbable que la ABP1 intervenga en todas las rutas de respuesta a auxinas porque la expresión de algunos genes de respuesta a auxinas no se ve afectada cuando se incuban protoplastos con anticuerpos anti-ABP1. Tampoco está claro cuál es el papel de ABP1 en el RE en la ruta de transducción de señal. Por último, hay que determinar si ABP_{57}, una proteína del arroz, soluble y no relacionada con ABP1, que activa la H^+-ATPasa (véase la figura 19.24), está implicada en alguna ruta de transducción de señal.

El calcio y el pH intracelular son posibles intermedios de señalización

El calcio juega un papel muy importante en la transducción de señal en animales y se cree que está implicado también en la acción de ciertas hormonas vegetales. El papel del calcio en la acción de las auxinas parece muy complejo, y en este momento, muy incierto. Sin embargo, algunas evidencias experimentales sugieren que las auxinas aumenta el nivel de calcio libre en la célula.

Los cambios en el pH citoplásmico también pueden servir como segundos mensajeros en animales y plantas. En plantas, cuatro minutos después de su aplicación, las auxinas inducen un descenso del pH citosólico de alrededor de 0,2 unidades. Se desconoce la causa de esta caída del pH. Como el pH citosólico, normalmente, es de 7,4 y el óptimo para la H^+-ATPasa de la membrana plasmática es de 6,5, un descenso de 0,2 unidades en el pH podría provocar un gran aumento de la actividad de la H^+-ATPasa de la membrana plasmática. El descenso del pH citosólico también podría estar implicado en el aumento del calcio libre intracelular inducido por auxinas, al promover la disociación de las formas unidas.

Las MAPs quinasa también implicadas en la respuesta a auxinas (véase el capítulo 14 en la página web). Estas proteínas tienen un papel importante en rutas de transducción de señales al fosforilar proteínas en una cascada que, en último término, activa los factores de transcripción. Cuando se someten células de tabaco a condiciones de ausencia de auxinas, se detienen al final de la fase G_1 o G_2 y cesan su división; si se añaden auxinas al medio de cultivo, reanudan su ciclo (Koens y col. 1995). (Para una descripción del ciclo celular, véase el capítulo 1.) Parece que la auxina ejerce sus efectos sobre el ciclo celular principalmente por estimulación de la síntesis de la principal proteína quinasa dependiente de ciclina (CDK): Cdc2 (ciclo de división celular 2) (véase el capítulo 14 en la página web).

Los genes inducidos por auxina se clasifican en dos categorías: tempranos y tardíos

Una de las funciones importantes de la/s ruta/s de transducción de señal iniciada/s cuando las auxinas se unen a su receptor es la activación de un grupo determinado de factores de transcripción. Los factores de transcripción activados entran en el núcleo y promueven la expresión de genes específicos. Los genes cuya expresión se ve estimulada por la activación de factores de transcripción preexistentes se denominan **genes de respuesta primaria** o **genes de respuesta temprana.**

Esta definición implica que todas las proteínas necesarias para la expresión de los genes de respuesta temprana inducidos por auxina están presentes en la célula en el momento de su exposición a la hormona; así, la expresión de los genes de respuesta temprana no puede verse bloqueada por inhibidores de la síntesis de proteínas como la cicloheximida. En consecuencia, el tiempo necesario para la expresión de los genes de respuesta temprana puede ser muy corto, y va desde unos pocos minutos a varias horas (Abel y Theologis 1996).

En general, los genes de respuesta primaria tienen tres funciones principales: (1) algunos de los genes de respuesta temprana codifican proteínas que regulan la transcripción de **genes de respuesta secundaria** o **genes de respuesta tardía**, necesarios para las respuestas a largo plazo a la hormona. Como los genes de respuesta tardía necesitan de la síntesis de novo de proteínas, su expresión puede ser bloqueada por inhibidores de la síntesis de proteínas. (2) Otros genes de respuesta temprana están implicados en la comunicación intercelular o señalización célula a célula. (3) Otro grupo de genes de respuesta temprana está implicado en la adaptación al estrés.

Se han identificado cinco clases principales de genes de respuesta a auxina:

- Genes implicados en el crecimiento y el desarrollo regulado por auxinas:
  1. La familia génica AUX/IAA
  2. La familia génica SAUR
  2. La familia génica GH3
- Los genes de respuesta al estrés:
  1. Genes que codifican a la glutatión S-transferasa
  2. Genes que codifican la ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) sintasa, el enzima clave en la ruta de biosíntesis del etileno (véase el capítulo 22)

Genes de respuesta temprana del crecimiento y desarrollo. Los miembros de la familia génica AUX/IAA codifican unos factores de transcripción de vida corta que funcionan como represores o activadores de los genes tardíos inducibles por auxinas. La expresión de la mayoría de los genes de la familia AUX/IAA se estimula por auxinas entre 5 y 60 minutos después de añadir la hormona. Todos los genes codifican pequeños polipéptidos hidrofílicos que tienen supuestos motivos de unión al DNA similares a los de los represores bacterianos. Tienen una vida media corta (unos 7 minutos), lo que indica que se recambian rápidamente.

La familia génica SAUR fue mencionada anteriormente en este capítulo en relación con los tropismos. Las auxinas estimulan la expresión de los genes SAUR entre 2 y 5 minutos después del tratamiento y la respuesta es insensible a la cicloheximida. Los cinco genes SAUR de soja están juntos, no contienen intrones y codifican polipéptidos muy similares cuya función se desconoce. Debido a la rapidez de la respuesta, la expresión de los genes SAUR se ha convertido en una prueba del transporte lateral de la auxina durante el foto- y el gravitropismo.

Los miembros de la familia génica temprana *GH3*, identificada en soja y en *Arabidopsis*, son estimulados por auxina en 5 minutos. Las mutaciones en genes como *GH3* de *Arabidopsis* dan lugar a enanismo (Nakazawa y col. 2001) y parece funcionar en las respuestas a auxina reguladas por la luz (Hsieh y col. 2000). Como la expresión del gen *GH3* es un buen reflejo de la presencia de auxina endógena, se ha extendido mucho el uso en bioensayos de auxina de un gen **marcador** sintético basado en *GH3* conocido como DR5 (véase la figura 19.5 y el **tema web 19.12**) (Ulmasov y col. 1997).

Genes de respuesta temprana de adaptación al estrés. Como comentamos anteriormente, las auxinas están implicadas en las respuestas al estrés, como por ejemplo, las heridas o lesiones. Varios genes que codifican las glutatión-S-transferasas (GST), una clase de proteínas estimuladas por diferentes condiciones estresantes, son inducidos por concentraciones elevadas de auxinas. Por otro lado, la ACC sintasa, que también es inducida por estrés y es el enzima de la etapa limitante de la biosíntesis del etileno (véase el capítulo 22), es inducida por altos niveles de auxina.

Para que los genes de respuesta temprana puedan ser inducidos, los promotores de estos genes han de tener elementos de respuesta que se unan a los factores de transcripción que se activan por la presencia de auxinas. Un número limitado de estos elementos de respuesta parece estar ordenados combinatoriamente en los promotores de una gran variedad de genes inducidos por auxina.

Los dominios de respuesta a auxinas son estructuras compuestas

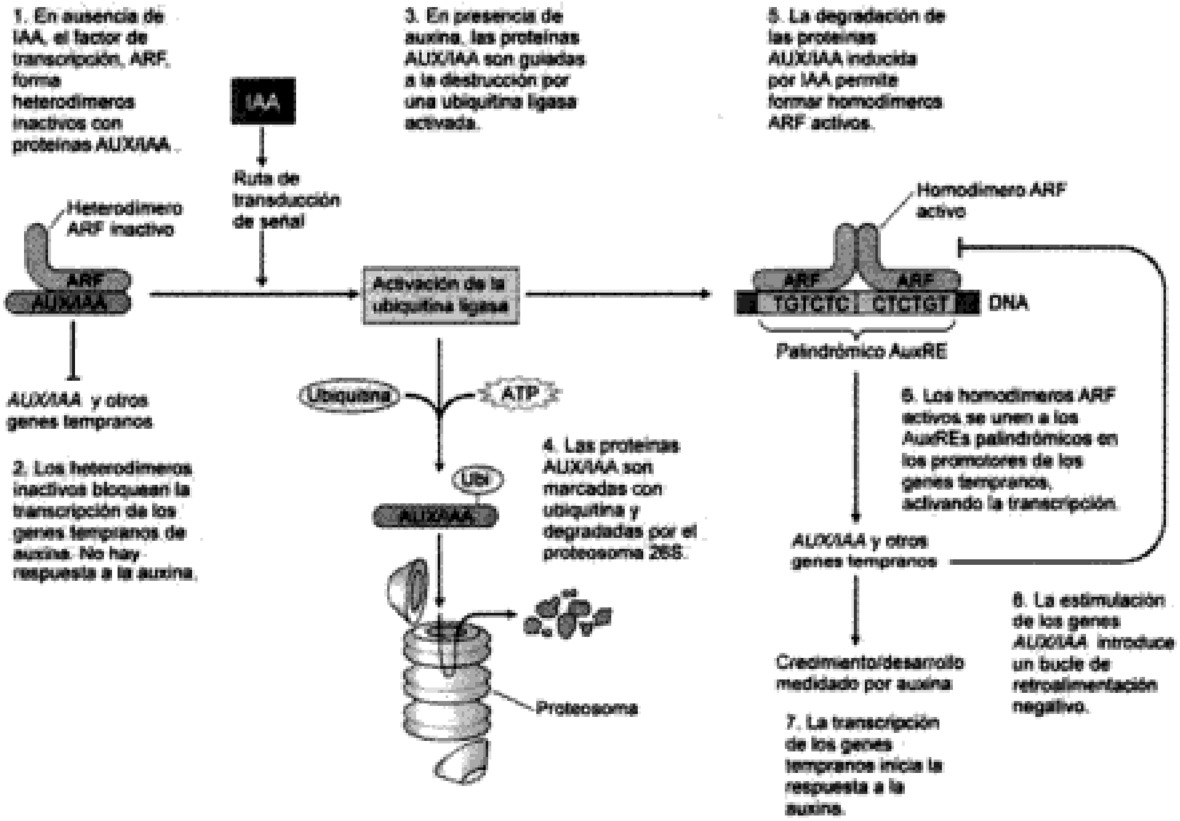
Un **elemento de respuesta a auxinas** (**AuxRE**) conservado en los promotores de los genes de respuesta temprana a auxina, como *GH3*, normalmente está combinado con otros elementos de respuesta para formar **dominios de respuesta a auxinas** (**AuxRD**). Por ejemplo, el promotor del gen *GH3* de la soja está formado por tres AuxRD (que a su vez contienen múltiples AuxRE cada uno) que, actuando independientemente, contribuyen notablemente a aumentar la alta inducibilidad del promotor.

Los genes de respuesta temprana a auxinas están regulados por factores de respuesta a auxinas

Como señalamos antes, los genes de respuesta temprana a auxinas son, por definición, insensibles a los inhibidores de la síntesis de proteínas como la cicloheximida. En lugar de ser inhibidos, la expresión de muchos de los genes de respuesta temprana de auxina resulta estimulada por la cicloheximida.

La estimulación de la expresión génica por cicloheximida se debe tanto a la activación transcripcional como a la estabilización del RNAm. La activación transcripcional de un gen por inhibidores de la síntesis de proteínas indica normalmente que el gen está reprimido por una proteína represora de vida corta o por una ruta reguladora que implica una proteína con una alta velocidad de recambio.

Una familia de **factores de respuesta a auxinas (ARF)** funciona como activadores transcripcionales por unión al elemento de respuesta a auxinas TGTCTC, que está presente en los promotores de los *GH3* y otros genes de respuesta temprana a auxinas. Las mutaciones en los genes ARF dan lugar a graves defectos en el desarrollo. Para unirse a AuxRE establemente, los ARF deben formar dímeros. Se ha propuesto que


1. En ausencia de IAA, el factor de transcripción, ARF, forma heterodímeros inactivos con proteínas AUX/IAA.

2. Los heterodímeros inactivos bloquean la transcripción de los genes tempranos de auxina. No hay respuesta a la auxina.

3. En presencia de auxina, las proteínas AUX/IAA son guiadas a la destrucción por una ubiquitina ligasa activada.

4. Las proteínas AUX/IAA son marcadas con ubiquitina y degradadas por el proteosoma 26S.

5. La degradación de las proteínas AUX/IAA inducida por IAA permite formar homodímeros ARF activos.

6. Los homodímeros ARF activos se unen a los AuxREs palindrómicos en los promotores de los genes tempranos, activando la transcripción.

7. La transcripción de los genes tempranos inicia la respuesta a la auxina.

8. La estimulación de los genes *AUX/IAA* introduce un bucle de retroalimentación negativo.

IAA
Ruta de transducción de señal
Heterodímero ARF inactivo
ARF
AUX/IAA
AUX/IAA y otros genes tempranos
Activación de la ubiquitina ligasa
Ubiquitina
ATP
Ubi
AUX/IAA
Proteosoma
Homodímero ARF activo
ARF
ARF
TGTCTC
CTCTGT
DNA
Palindrómico AuxRE
AUX/IAA y otros genes tempranos
Crecimiento/desarrollo medidado por auxina

Figura 19.41 Modelo para la regulación de la activación de la transcripción de los genes de la respuesta temprana por auxinas. (Según Gray y col. 2001.)

los dímeros AFR promueven la transcripción al unirse a dos AuxRE ordenados en un palíndromo (Ulmasov y col. 1997).

Estudios recientes indican que las proteínas codificadas por la familia génica AUX/IAA (en sí misma una de las familias génicas de respuesta temprana a auxinas) pueden inhibir la transcripción de los genes de respuesta temprana a auxinas por formación de heterodímeros inactivos con ARF. Estos heterodímeros inactivos pueden actuar inhibiendo la unión ARF-AuxRE, y bloquear, por tanto, bien la activación o bien la represión del gen. Las proteínas AUX/IAA pueden, así, actuar como inhibidores de los ARF.

Actualmente se cree que las auxinas inducen la transcripción de los genes de respuesta temprana promoviendo la degradación proteolítica de las proteínas inhibidoras AUX/IAA, de manera que se puedan formar dímeros ARF activos. Se desconoce el mecanismo preciso por el cual las auxinas provocan el recambio de AUX/IAA, aunque se cree que pueden estar implicadas la ubiquitinación por una ubiquitina ligasa y la proteólisis por el gran complejo proteosoma 26S (véase el capítulo 14 en la página web) (Gray y col. 2001; Zenser y col. 2001). Obsérvese que en la ruta se introduce un bucle de retroalimentación negativa dado que una de las familias génicas cuyo recambio provocan las auxinas es AUX/IAA, que inhibe la respuesta.

En la figura 19.41 se muestra un modelo de la regulación por auxinas de los genes de respuesta temprana, basado en los descubrimientos aquí descritos.

RESUMEN

Las auxinas fueron las primeras hormonas descubiertas en plantas y forman parte de una extensa lista de agentes señalizadores químicos que regulan el desarrollo vegetal. La forma más común de auxina natural es el ácido indol-3-acético (IAA). Una de las principales funciones de las auxinas en las plantas superiores es la regulación del crecimiento longitudinal de tallos jóvenes y coleóptilos. Para la elongación radical también son necesarios bajos niveles de auxinas, aunque a concentraciones altas, las auxinas pueden actuar como inhibidores del crecimiento de las raíces.

La medición precisa de la cantidad de auxinas en tejidos vegetales es fundamental para la comprensión del papel de esta hormona en la fisiología vegetal. Los bioensayos iniciales con coleóptilos han sido sustituidos por técnicas más exactas, que incluyen métodos fisicoquímicos e inmunoensayos.

La regulación del crecimiento vegetal puede depender en parte de la cantidad de auxina libre presente en las células, en los tejidos y en los órganos. Hay dos fuentes principales de auxina en las células: el citosol y los cloroplastos. Los niveles de auxina libre pueden ser modulados por varios factores, que incluyen la síntesis e hidrólisis del IAA conjugado, el metabolismo del IAA y el transporte polar de la auxina.

Se han identificado varias rutas en la biosíntesis del IAA, unas rutas son dependientes de triptófano y otras independientes de este aminoácido. También se han identificado varias rutas degradativas del IAA.

El IAA se sintetiza principalmente en la yema apical y es transportado polarmente a la raíz. Se cree que el transporte polar se produce principalmente en las células del parénquima asociadas con el tejido vascular. El transporte polar de auxina puede dividirse en dos procesos esenciales: la entrada de IAA y la salida de IAA. De acuerdo con el modelo quimiosmótico del transporte polar, hay dos formas de entrada del IAA: por transporte pasivo de la forma no disociada dependiente de pH, o por una mecanismo de cotransporte activo con H^+ dirigido por la H^+-ATPasa de la membrana plasmática.

Se cree que la salida de auxina se produce principalmente en los extremos basales de las células transportadoras a través de proteínas transportadoras de salida de aniones, y que está dirigida por el potencial de membrana generado por la H^+-ATPasa de la membrana plasmática. Los inhibidores del transporte de auxinas (ATI) pueden interrumpir el transporte de auxinas directamente, compitiendo con éstas por la salida a través del poro canal o por la unión de proteínas reguladoras y estructurales asociadas con el canal de salida. Las auxinas también pueden ser transportadas de forma no polar por el floema.

La elongación celular inducida por auxina se inicia después de un período de latencia de 10 minutos. La auxina promueve la elongación principalmente aumentando la extensibilidad de la pared celular. La pérdida de rigidez de la pared inducida por auxinas necesita un aporte metabólico continuo que, en parte, es mimetizado por el tratamiento con tampones ácidos.

De acuerdo con la hipótesis del crecimiento ácido, una de las acciones importantes de las auxinas es inducir el transporte de protones a la pared celular por estimulación de la H^+-ATPasa de la membrana plasmática. Se han propuesto dos mecanismos de extrusión de protones inducida por auxinas, la activación directa de la bomba de protones y la estimulación de la síntesis de la H^+-ATPasa de la membrana. La capacidad de los protones para provocar la pérdida de rigidez de la pared celular está mediada por un conjunto de proteínas llamadas expansinas. Las expansinas provocan la pérdida de rigidez la pared celular al romper los puentes de hidrógeno entre los polisacáridos de la pared. Además de la salida de protones, el crecimiento a largo plazo inducido por auxinas promueve la síntesis y deposición de polisacáridos y material proteico necesarios para mantener la capacidad de pérdida de rigidez de la pared inducida por ácido.

Los efectos fisiológicos mejor estudiados son la estimulación del crecimiento en tallos y coleóptilos y la inhibición del crecimiento en las raíces. El crecimiento diferencial promovido por auxina en estos órganos es el responsable de las respuestas a los estímulos direccionales (la luz y la gravedad) llamadas tropismos. De acuerdo con el modelo de Cholodny-Went, la auxina es transportada lateralmente al lado de sombra durante el fototropismo y al lado inferior durante el gravitropismo. Los estatolitos (amiloplastos llenos de almidón) en los estatocitos están implicados en la percepción normal de la gravedad, pero no son absolutamente necesarios.

Además de sus funciones en el crecimiento y los tropismos, la auxina juega un papel fundamental en la dominancia apical, el surgimiento de raíces laterales, la abscisión de las hojas, la diferenciación vascular, la formación de yemas florales y el desarrollo del fruto. Comercialmente las auxinas que se usan como enraizantes y herbicidas.

La proteína soluble de unión a auxina ABP1 es un candidato importante a ser el receptor de las auxinas. ABP1 está localizada principalmente en la luz del RE. Los estudios sobre la ruta de transducción de señal implicada en la acción de las auxinas también han descubierto la acción de otros elementos señalizadores, como el Ca^{2+}, el pH intracelular y las quinasas en la división celular inducida por auxinas.

Los genes inducidos por auxinas se pueden agrupar en dos grandes categorías: los genes de respuesta temprana y los genes de respuesta tardía. La inducción de los genes de respuesta temprana no necesita la síntesis de proteínas y por lo tanto es insensible a los inhibidores de dicha síntesis. Los genes de respuesta temprana se dividen en tres clases atendiendo a su función: expresión de genes de respuesta tardía (genes de respuesta secundaria), adaptación al estrés y señalización intracelular. Los dominios de respuesta a la auxina de los promotores de los genes de respuesta temprana están formados por una estructura compuesta en la que los elementos de respuesta a auxinas están combinados con un elemento de respuesta constitutiva. Los genes inducidos por auxinas pueden estar regulados negativamente por proteínas represoras que son degradadas a través de la activación de una ruta de ubiquitinación.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

19.1 Auxinas sintéticas

Las auxinas sintéticas biológicamente activas tienen unas estructuras sorprendentemente diversas.

19.2 Las necesidades estructurales para la actividad de las auxinas

La comparación de una gran variedad de compuestos que poseen actividad auxínica ha revelado unas características comunes a nivel molecular que son esenciales para su actividad biológica.

19.3 Medición de auxinas por radioinmunoensayo
El radioinmunoensayo (RIA) permite la medición del IAA a niveles fisiológicos (10^{-9} g = 1 ng) en tejidos vegetales.

19.4 Evidencias de la biosíntesis de IAA independiente de triptófano
Se aportan experimentos adicionales que evidencian la biosíntesis de IAA independiente de triptófano.

19.5 Los múltiples factores que regulan el estado estacionario de los niveles de IAA
El nivel del estado estacionario del IAA libre en el citosol está determinado por varios procesos interconectados, como la síntesis, la degradación, la conjugación, la compartimentalización y el transporte.

19.6 El mecanismo de la activación de la H^+-ATPasa de la membrana plasmática por fusicocina
La fusicocina, una fitotoxina producida por el hongo *Fusicocum amygdale*, provoca la hiperpolarización de la membrana y la salida de protones en casi todos los tejidos vegetales y actúa como una «superauxina» en los ensayos de elongación.

19.7 La respuesta de fluencia del fototropismo
Se describe el efecto de la dosis de luz sobre el fototropismo y se presenta un modelo que explica el fenómeno.

19.8 La expresión diferencial del gen SAUR durante el gravitropismo
La expresión del gen SAUR se utiliza para detectar el gradiente lateral de la auxina durante el gravitropismo.

19.9 La percepción de la gravedad sin estatolitos en *Chara*
El alga de agua dulce *Chara*, formada por células gigantes, se curva en respuesta a la gravedad sin tener, aparentemente, estatolitos.

19.10 El papel de las citoquininas en la dominancia apical
En el abeto Douglas *Pseudotsuga menziesii*, hay una correlación entre los niveles de citoquininas y el crecimiento de yemas axilares.

19.11 El papel del ABA en la dominancia apical
En la mala hierba *Elytrigia repens* el crecimiento de las yemas axilares está relacionado con una reducción de ABA.

19.12 La facilitación de las mediciones de IAA por las construcciones basadas en el marcador *GH3*

Puesto que la expresión del gen GH3 es un buen reflejo de la presencia de auxina endógena, el uso de un gen **marcador** basado en *GH3*, conocido como DR5, está muy extendido en los bioensayos con auxinas.

19.13 Efecto de las auxinas en la degradación mediada por ubiquitina de las proteínas AUX/IAA

Se presenta un modelo de degradación de las proteínas AUX/IAA regulada por auxinas.

ENSAYOS WEB

19.1 Brasinosteroides: una nueva clase de hormonas esteroides vegetales

Los brasinosteroides están implicados en una amplia variedad de fenómenos del desarrollo vegetal, como la elongación del tallo, la inhibición del crecimiento radical y la biosíntesis del etileno.

19.2 La exploración de las bases celulares del transporte polar de auxinas

Las evidencias experimentales indican que el transporte polar de la hormona vegetal auxina está regulado a nivel celular. Esto supone que las proteínas implicadas en el transporte de auxinas deben estar distribuidas asimétricamente en la membrana plasmática. El modo de llegada de estas proteínas de transporte a su destino es el aspecto principal de la investigación actual.

19.3 El fototropismo: De la fotopercepción a los cambios en la expresión génica inducidos por auxina

El tema de este ensayo es cómo la fotopercepción por fototropinas está acoplada a la señalización por auxinas.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Abel S., Ballas N., Wong L-M. y Theologis A. (1996) DNA elements responsive to auxin. *Bioessays* 18: 647–654.

Aloni R. (2001) Foliar and axial aspects of vascular differentiation: Hypotheses and evidence. *J. Plant Growth Regul.* 20: 22–34.

Aloni R. (1995) The induction of vascular tissue by auxin and cytokinin. En *Plant Hormones and Their Role in Plant Growth Development*, 2ª ed., P. J. Davies, ed., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 531–546.

Aloni R., Schwalm K., Langhans M. y Ullrich C. I. (2002) Gradual shifts in sites and levels of auxin synthesis during leaf-primordium development and their role in vascular differentiation and leaf morphogenesis in *Arabidopsis*. Manuscript submitted for publication.

Bartel B. (1997) Auxin biosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 51–66.

Bennett M. J., Marchand A., Green H. G., May S. T., Ward S. P., Millner P. A., Walker A. R., Schultz B. y Feldmann K. A. (1996) *Arabidopsis* AUX1 gene: A permease-like regulator of root gravitropism. *Science* 273: 948–950.

Bernasconi P. (1996) Effect of synthetic and natural protein tyrosine kinase inhibitors on auxin efflux in zucchini (*Cucurbita pepo*) hypocotyls. *Physiol. Plant.* 96: 205–210.

Briggs W. R., Beck C. F., Cashmore A. R., Christie J. M., Hughes J., Jarillo J. A., Kagawa T., Kanegae H., Liscum E., Nagatani A., Okada K., Salomon M., Ruediger W., Sakai T., Takano M., Wada M. y Watson J. C. (2001) The phototropin family of photoreceptors. *Plant Cell* 13: 993–997.

Brown D. E., Rashotte A. M, Murphy A. S., Normanly J., Tague B.W., Peer W. A., Taiz L. y Muday G. K. (2001) Flavonoids act as negative regulators of auxin transport *in vivo* in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 126: 524–535.

Celenza J. L., Grisafi P. L. y Fink G. R. (1995) A pathway for lateral root formation in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Dev.* 9: 2131–2142.

Chen J. G., Ullah H., Young J. C., Sussman M. R. y Jones A. M. (2001) ABP1 is required for organized cell elongation and division in *Arabidopsis* embryogenesis. *Genes Dev.* 15: 902–911.

Chen R., Hilson P., Sedbrook J., Rosen E., Caspar T. y Masson P. H. (1998) The *Arabidopsis thaliana* AGRAVITROPIC 1 gene encodes a component of the polar-auxin-transport efflux carrier. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 15112–15117.

Cleland R. E. (1995) Auxin and cell elongation. En *Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development*, 2ª ed., P. J. Davies, ed., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 214–227.

Fasano J. M., Swanson S. J., Blancaflor E. B., Dowd P. E., Kao T. H. y Gilroy S. (2001) Changes in root cap pH are required for the gravity response of the *Arabidopsis* root. *Plant Cell* 13: 907–921.

Friml J., Wl?sniewska J., Benková, E., Mendgen K. y Palme K. (2002) Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*. *Nature* 415: 806–809.

Fujihira K., Kurata T., Watahiki M. K., Karahara I. y Yamamoto K. T. (2000) An agravitropic mutant of Arabidopsis, *endodermal-amyloplast less 1*, that lacks amyloplasts in hypocotyl endodermal cell layer. *Plant Cell Physiol.* 41: 1193–1199.

Galston A. (1994) *Life Processes of Plants*. Scientific American Library, New York.

Garbers C., DeLong A., Deruere J., Bernasconi P. y Soll D. (1996) A mutation in protein phosphatase 2A regulatory subunit affects auxin transport in *Arabidopsis*. *EMBO J.* 15: 2115–2124.

Geldner N., Friml J., Stierhof Y. D., Jurgens G. y Palme K. (2001) Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking. *Nature.* 413: 425–428.

Gocal G. F. W., Pharis R. P., Yeung E. C. y Pearce D. (1991) Changes after decapitation in concentrations of IAA and abscisic acid in the larger axillary bud of *Phaseolus vulgaris* L. cultivar Tender Green. *Plant Physiol.* 95: 344–350.

Gray W. M., Kepinski S., Rouse D., Leyser O. y Estelle M. (2001) Auxin regulates the SCFTIR$_1$–dependent degradation of AUX/IAA proteins. *Nature* 414: 271–276.

Hartmann H. T. y Kester D. E. (1983) *Plant Propagation: Principles and Practices*, 4ª ed. Prentice-Hall, Inc., N.J.

Hasenstein K. H. y Evans M. L. (1988) Effects of cations on hormone transport in primary roots of *Zea mays*. *Plant Physiol.* 86: 890–894.

Hsieh H. L., Okamoto H, Wang M. L., Ang L. H., Matsui M., Goodman H., Deng XW. (2000) *FIN219*, an Auxin-regulated gene, defines a link between phytochrome A and the downstream regulator COP1 in light control of *Arabidopsis* development. *Genes Dev.* 14: 1958–1970.

Iino M. y Briggs W. R. (1984) Growth distribution during first positive phototropic curvature of maize coleoptiles. *Plant Cell Environ*. 7: 97–104.

Jacobs M. y Gilbert S. F. (1983) Basal localization of the presumptive auxin carrier in pea stem cells. *Science* 220: 1297–1300.

Jacobs M. y Rubery P. H. (1988) Naturally occurring auxin transport regulators. *Science* 241: 346–349.

Jacobs M y Ray P. M. (1976) Rapid auxin-induced decrease in the free space pH and its relationship to auxin-induced growth in maize and pea. *Plant Physiol.* 58: 203–209.

Kim Y.-S., Min J.-K., Kim D. y Jung J. (2001) A soluble auxin-binding protein, ABP57. *J. Biol. Chem.* 276: 10730–10736.

Koens K. B., Nicoloso F. T., Harteveld M., Libbenga K. R. y Kijne J. W. (1995) Auxin starvation results in G2-arrest in suspension-cultured tobacco cells. *J. Plant Physiol.* 147: 391–396.

Kuhlemeier C. y Reinhardt D. (2001) Auxin and Phyllotaxis. *Trends in Plant Science*. 6: 187–189.

Langridge W. H. R., Fitzgerald K. J., Koncz C., Schell J. y Szalay A. A. (1989) Dual promoter of *Agrobacterium tumefaciens* mannopine synthase genes is regulated by plant growth hormones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 3219–3223.

Ljung K., Bhalerao R. P. y Sandberg G. (2001) Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. *Plant J.* 29: 465–474.

Lomax T. L. (1986) Active auxin uptake by specific plasma membrane carriers. En *Plant Growth Substances*, M. Bopp, ed., Springer, Berlin, págs. 209–213.

Marchant A., Kargul J., May S. T., Muller P., Delbarre A., Perrot-Rechenmann C. y Bennet M. J. (1999) AUX1 regulates root gravitropism in *Arabidopsis* by facilitating auxin uptake within root apical tissues. *EMBO J.* 18: 2066–2073.

McClure B. A. y Guilfoyle T. (1989) Rapid redistribution of auxin-regulated RNAs during gravitropism. *Science* 243: 91–93.

Mulkey T. I., Kuzmanoff K. M. y Evans M. L. (1981) Correlations between proton-efflux and growth patterns during geotropism and phototropism in maize and sunflower. *Planta* 152: 239–241.

Müller A., Guan C., Gälweiler L., Taenzler P., Huijser P., Marchant A., Parry G., Bennett M., Wisman E. y Palme K. (1998) AtPIN2 defines a locus of *Arabidopsis* for root gravitropism control. *EMBO J.* 17: 6903–6911.

Murphy A. S., Peer W. A. y Taiz L. (2000) Regulation of auxin transport by aminopeptidases and endogenous flavonoids. *Planta* 211: 315–324.

Nakazawa M., Yabe N., Ishikawa T., Yamamoto Y. Y. Yoshizumi T., Hasunuma K. y Matsui M. (2001) *DFL1*, an auxin-responsive *GH3* gene homologue, negatively regulates shoot cell elongation and lateral root formation, and positively regulates the light response of hypocotyls length. *Plant J.* 25: 213–221.

Nonhebel H. M., Cooney T. P. y Simpson R. (1993) The route, control and compartmentation of auxin synthesis. *Aust J. Plant Physiol.* 20: 527–539.

Normanly J. P., Slovin J. y Cohen J. (1995) Rethinking auxin biosynthesis and metabolism. *Plant Physiol.* 107: 323–329.

Palme K. y Gälweiler L. (1999) PIN-pointing the molecular basis of auxin transport. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2: 375–381.

Parry G., Delbarre A., Marchant A., Swarup R., Napier R., Perrot-Rechenmann C. y Bennett M. J. (2001) Novel auxin transport inhibitors phenocopy the auxin influx carrier mutation aux1. *Plant J.* 25: 399–406.

Peer W. A., Brown D., Taiz L., Muday G. K. y Murphy A. S. (2001) Flavonol accumulation patterns correlate with developmental phenotypes of transparent testa mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 126: 536–548.

Peltier J.-B. y Rossignol M. (1996) Auxin-induced differential sensitivity of the H^+-ATPase in plasma membrane subfractions from tobacco cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 219: 492–496.

Romano C. P., Hein M. B. y Klee H. J. (1991) Inactivation of auxin in tobacco transformed with the indoleacetic acid-lysine synthetase gene of *Pseudomonas savastanoi*. *Genes Dev.* 5: 438–446.

Schmidt R. C., Müller A., Hain R., Bartling D. y Weiler E. W. (1996) Transgenic tobacco plants expressing the *Arabidopsis thaliana* nitrilase II enzyme. *Plant J.* 9: 683–691.

Shaw S. y Wilkins M. B. (1973) The source and lateral transport of growth inhibitors in geotropically stimulated roots of *Zea mays* and *Pisum sativum*. *Planta* 109: 11–26.

Sievers A., Buchen B. y Hodick D. (1996) Gravity sensing in tip-growing cells. *Trends Plant Sci.* 1: 273–279.

Sitbon F., Edlund A., Gardestrom P., Olsson O. y Sandberg G. (1993) Compartmentation of indole-3-acetic acid metabolism in protoplasts isolated from leaves of wild-type and IAA-overproducing transgenic tobacco plants. *Planta* 191: 274–279.

Steffens B., Feckler C., Palme K., Christian M., Bottger M. y Luethen H. (2001) The auxin signal for protoplast swelling is perceived by extracellular ABP1. *Plant J.* 27: 591–599.

Swarup R., Friml J., Marchant A., Ljung K., Sandberg G., Palme K. y Bennett M. (2001) Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the *Arabidopsis* root apex. *Genes Dev.* 15: 2648–2653.

Ulmasov T., Murfett J., Hagen G. y Guilfoyle T. J. (1997) Aux/IAA proteins repress expression of reporter genes containing natural and highly active synthetic auxin response elements. *Plant Cell.* 9: 1963–1971.

Utsuno K., Shikanai T., Yamada Y. y Hashimoto T. (1998) AGR, an AGRAVITROPIC locus of *Arabidopsis thaliana* encodes a novel membrane protein family member. *Plant Cell Physiol.* 39: 1111–1118.

Venis M. A. y Napier R. M. (1997) Auxin perception and signal transduction. En *Signal Transduction in Plants*, P. Aducci ed., Birkhäuser, Basel, Switzerland, págs. 45–63.

Venis M. A., Napier R. M. y Oliver S. (1996) Molecular analysis of auxin-specific signal transduction. *Plant Growth Regulation.* 18: 1–6.

Volkmann D. y Sievers A. (1979) Graviperception in multicellular organs. En *Encyclopedia of Plant Physiology*, New Series, Vol. 7, W. Haupt and M. E. Feinleib eds., Springer, Berlin, págs. 573–600.

Wright A. D., Sampson M. B., Neuffer M. G., Michalczuk L. P., Slovin J. y Cohen J. (1991) Indole-3-acetic acid biosynthesis in the mutant maize orange pericarp, a tryptophan auxotroph. *Science* 254: 998–1000.

Yoder T. L., Zheng H.-Q., Todd P. y Staehelin L. A. (2001) Amyloplast sedimentation dynamics in maize columella cells support a new model for the gravity-sensing apparatus of roots. *Plant Physiol.* 125: 1045–1060.

Young L. M. y Evans M. L. (1994) Calcium-dependent asymmetric movement of ^{3}H-indole-3-acetic acid across gravistimulated isolated root caps of maize. *Plant Growth Regul.* 14: 235–242.

Young L. M. y Evans M. L. (1996) Patterns of auxin and abscisic acid movement in the tips of gravistimulated primary roots of maize. *Plant Growth Regul.* 20: 253–258.

Young L. M., Evans M. L. y Hertel R. (1990) Correlations between gravitropic curvature and auxin movement across gravistimulated roots of *Zea mays*. *Plant Physiol.* 92: 792–796.

Zenser N., Ellsmore A., Leasure C. y Callis J. (2001) Auxin modulates the degradation rate of Aux/IAA proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 11795–11800.

Zheng H. Q. y Staehelin L. A. (2001) Nodal endoplasmic reticulum, a specialized form of endoplasmic reticulum found in gravity-sensing root tip columella cells. *Plant Physiol.* 125: 252–265.

Capítulo 20

GIBERELINAS: REGULADORES DE LA ALTURA DE LAS PLANTAS

CASI 30 AÑOS DESPUÉS del descubrimiento de las auxinas en 1927 y unos 20 años después de la descripción de la estructura del ácido indol-3-acético, los fisiólogos vegetales occidentales tendieron a atribuir todos los fenómenos de desarrollo de la planta a las auxinas. Sin embargo, como veremos en éste y en los siguientes capítulos, el crecimiento y desarrollo vegetal están regulados por varios tipos de hormonas que actúan tanto individual como conjuntamente.

En la década de 1950 se caracterizó el segundo grupo de hormonas, las giberelinas (GAs). Las giberelinas son un amplio grupo de compuestos relacionados (se conocen más de 125) que, a diferencia de las auxinas, se definen más por su estructura química que por su actividad biológica. Las giberelinas, con frecuencia, se asocian a la promoción del crecimiento del tallo de modo que su aplicación a plantas intactas puede inducir grandes aumentos en la altura de las plantas.

La biosíntesis de las giberelinas se halla bajo un estricto control genético y del entorno y se han aislado numerosos mutantes deficientes en giberelinas. Un famoso ejemplo son los alelos grande/enano utilizados por Mendel en guisante. Tales mutantes han sido de gran utilidad para el descubrimiento de las rutas de biosíntesis de giberelinas.

Empezaremos este capítulo con una descripción del descubrimiento, estructura química y función de las giberelinas en la regulación de varios procesos fisiológicos, incluidos la germinación, la movilización del endospermo almacenado en las reservas, el crecimiento del tallo, la floración, el desarrollo floral y el cuajado del fruto. Examinaremos el proceso de biosíntesis de las giberelinas, así como la identificación de la forma activa de estas hormonas.

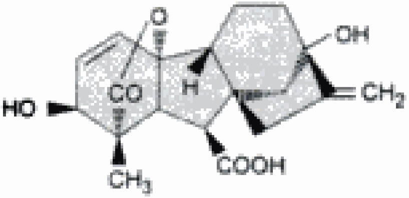
En los últimos años, el uso de la genética molecular ha permitido mejorar notablemente en nuestra comprensión del mecanismo de acción de la giberelinas a nivel molecular. Estos avances se analizarán al final de este capítulo.

EL DESCUBRIMIENTO DE LAS GIBERELINAS

Aunque las giberelinas no fueron conocidas por científicos americanos y británicos hasta la década de 1950, habían sido descubiertas mucho antes por los científicos japoneses. Los agricultores de arroz de Asia conocían desde hacía tiempo una enfermedad que hacia que las plantas de arroz crecieran altas, pero sin producir semillas. En Japón esta enfermedad se conocía con el nombre de enfermedad de la «planta loca» o *bakanae*.

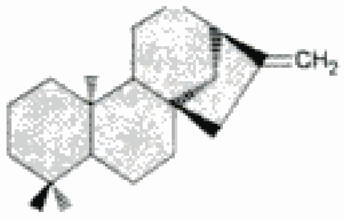
Los patólogos vegetales que investigaban la enfermedad encontraron que la altura de las plantas era potenciada por un compuesto químico secretado por un hongo que había infectado las plantas altas. Este compuesto químico se aisló a partir de filtrados de cultivos del hongo y se le llamó *giberelina*, después de llamar al hongo *Gibberella fujikuroi*.

En la década de 1930, los científicos japoneses consiguieron obtener cristales impuros de los compuestos fúngicos activos en el crecimiento, y los denominaron *giberelinas A* y *B*, pero debido a las barreras de comunicación y a la Segunda Guerra Mundial, dicha información no llegó a Occidente. No fue hasta mediados de la década de 1950 que dos grupos (uno en la estación experimental de las Industrias Químicas Imperiales (ICI) en Welyn en Gran Bretaña y otro en el Departamento americano de agricultura (USDA) en Peoria, Illinois), averiguaron la estructura del material que habían purificado a partir de filtrados de cultivos fúngicos, y lo denominaron *ácido giberélico*:



Más o menos al mismo tiempo, científicos de la Universidad de Tokio aislaron tres giberelinas a partir de la giberelina A original y las denominaron giberelina A_1, giberelina A_2 y giberelina A_3. La giberelina A_3 y el ácido giberélico resultaron ser idénticos.

Era evidente la existencia de una familia completa de giberelinas y que en cada cultivo fúngico predominaba una giberelina diferente, aunque el ácido giberélico era siempre el componente principal. Como veremos, la característica estructural que todas las giberelinas tienen en común, y que las caracteriza y las define como una familia de moléculas, es que derivan de la estructura en anillo del *ent*-kaureno



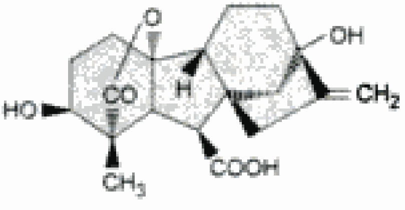
ent-Kaureno

Cuando se purificó el ácido giberélico, los fisiólogos comenzaron a ensayarlo en una gran variedad de plantas. Se obtuvieron respuestas espectaculares en la elongación de plantas enanas y en roseta, concretamente en guisante enano (*Pisum sativum*) y en maíz enano (*Zea mays*) y también en numerosas plantas en roseta.

Por el contrario, las plantas que eran genéticamente altas no mostraron ninguna respuesta tras la aplicación de giberelinas. En experimentos recientes utilizando guisante enano y maíz enano se ha confirmado que la elongación natural de las plantas está regulada por giberelinas, como describiremos más adelante.

Como las aplicaciones de giberelinas podían aumentar la altura de plantas enanas, la pregunta obligatoria era si las plantas contenían sus propias giberelinas. Poco después del descubrimiento de los efectos del ácido giberélico en el crecimiento, se aislaron sustancias similares a las giberelinas de varias especies vegetales[1]. Las *sustancias similares a las giberelinas* se refieren a compuestos o extractos cuya actividad biológica es similar al efecto del ácido giberélico, pero que no ha sido definido por el momento. Tal respuesta indica, pero no demuestra, que la sustancia probada es, o es similar, al ácido giberélico.

En 1958 se identificó de forma concluyente una giberelina (giberelina A_1) en plantas superiores (en semillas de habichuelas, *Phaseolus coccineus*):



Giberelina A_1 (GA_1)

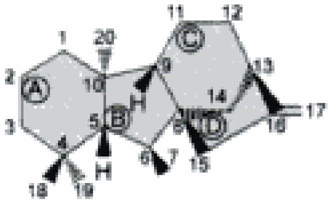
Para la extracción de las giberelinas se eligió semillas inmaduras cuya concentración de giberelinas es muy superior a la que hay en el tejido vegetativo. Sin embargo, McMillan y sus colaboradores tuvieron que utilizar grandes cantidades de semillas como la concentración de las giberelinas en las plantas es muy baja (varias partes por billón en el tejido vegetativo y hasta 1 parte por millón en semillas).

---

[1] Phinney (1983) proporcionó una visión personal maravillosa de los descubrimientos de las giberelinas.

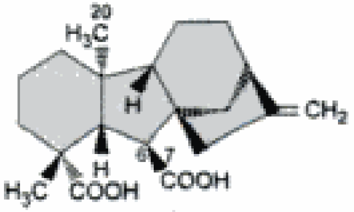
A medida que se fueron caracterizando giberelinas de hongos y plantas, se fueron numerando como giberelina A_x (o GA_x), donde X es un número, siguiendo el orden de descubrimiento. Este esquema fue universalmente adoptado para las giberelinas en 1968. Sin embargo, hay que destacar que el número de las giberelinas es simplemente un catálogo, diseñado para evitar el caos en la nomenclatura de las giberelinas. No implica una similitud química o relación metabólica entre las giberelinas con números adyacentes.

Todas las giberelinas están basadas en el esqueleto *ent*-giberelano:



Estructura *ent*-giberelano

Algunas giberelinas tienen el esqueleto completo de 20 carbonos (C_{20}-GAs):



GA_{12} (una giberelina C_{20})

Otros tienen sólo 19 carbonos (C_{19}-GAs) porque han perdido un carbono en su metabolismo.

Hay otras variantes de la estructura básica, especialmente el estado de oxidación del carbono 20 (en C_{20}-GAs) y el número y posición de los grupos hidroxilo en la molécula (véase el **tema web 20.1**). A pesar de la gran variedad de giberelinas existentes, los análisis genéticos han demostrado que sólo algunas son biológicamente activas como hormonas. Todas las demás son precursores o representan formas inactivadas.

LOS EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LAS GIBERELINAS

Aunque fueron originalmente descubiertas como causantes de una enfermedad en el arroz que estimulaba la elongación del entrenudo, las giberelinas endógenas influyen en una gran variedad de procesos del desarrollo. Además de la elongación del tallo, las giberelinas controlan varios aspectos de la germinación de las semillas, como la dormición y la movilización de las reservas del endospermo. En el desarrollo reproductivo, las giberelinas pueden afectar a la transición desde el estado juvenil al estado maduro, así como en la iniciación floral, en la determinación del sexo y en el cuajado del fruto. En esta sección revisaremos algunos de estos fenómenos regulados por las giberelinas.

Las giberelinas estimulan el crecimiento del tallo de plantas enanas y plantas en roseta

La aplicación de giberelinas promueve la elongación de los entrenudos en una gran cantidad de especies. Sin embargo, los efectos más acusados se dan en las especies

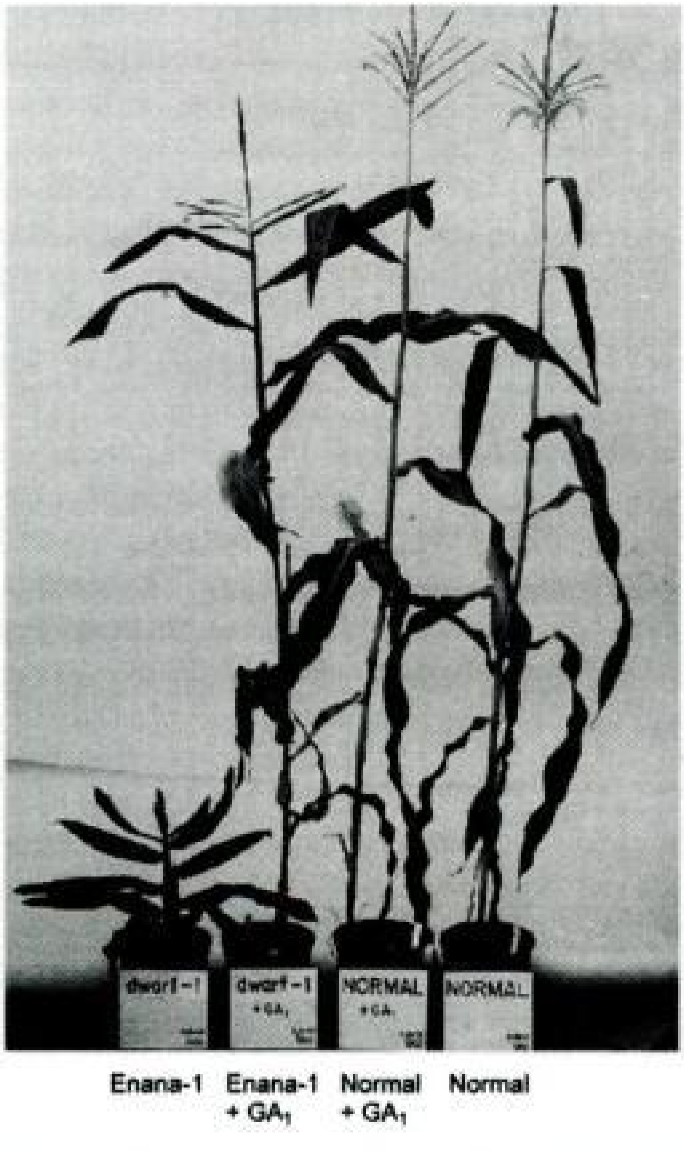


Figura 20.1 El efecto de la GA$_1$ exógena sobre una planta de maíz normal y enana (*d1*). La giberelina estimula dramáticamente la elongación del tallo en el mutante enano, pero tiene muy poco efecto o no tiene sobre la planta silvestre. (Cortesía de B. Phinney).

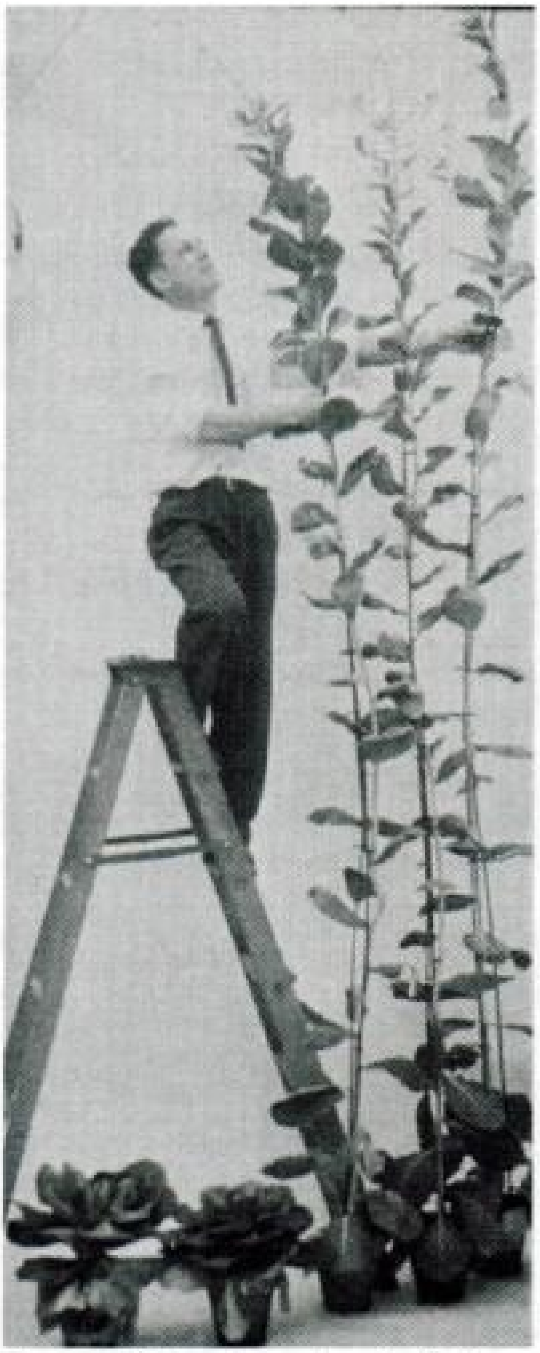


Figura 20.2 La col, una planta de día largo, permanece como roseta en días cortos, pero al aplicar giberelinas se puede inducir la emergencia y la floración. En el caso ilustrado, se obtuvieron tallos gigantes. (©Sylvan Wilter/Visuals Unlimited).

enanas y en roseta, así como en los miembros de la familia de las herbáceas. El GA_3 exógeno provoca una elongación extrema del tallo de plantas enanas, pareciéndose incluso a las variedades más altas de la misma especie (Figura 20.1). Junto con este efecto se produce una disminución del grosor del tallo, un descenso del tamaño de la hoja y una pérdida de intensidad del color verde de las hojas.

Algunas plantas adquieren una forma en roseta en los días cortos y para que se produzca la elongación del tallo y la respuesta floral requieren días largos (véase el capítulo 24). La aplicación de giberelinas dan lugar a la caulescencia típica (crecimiento del tallo) en plantas que se han mantenido en días cortos (Figura 20.2) y el crecimiento natural está regulado por giberelinas endógenas. Además, como señalamos antes, muchas plantas en roseta de día largo requieren de frío para la elongación del tallo y la floración, no siendo necesario este requerimiento al aplicar giberelinas.

Las giberelinas también promueven la elongación de los entrenudos en miembros de la familia de las herbáceas. El punto de acción de las giberelinas es el **meristemo intercalar**, un meristemo localizado cerca de la base del entrenudo que crece por encima y por debajo del mismo. El arroz de agua profunda es un ejemplo particularmente llamativo. Más adelante en este capítulo, examinaremos los efectos de las giberelinas en el crecimiento del arroz de agua profunda, concretamente en la sección del mecanismo de elongación del tallo inducido por giberelinas.

Aunque las giberelinas pueden aumentar el crecimiento del tallo de forma dramática, éstas tienen un escaso efecto directo sobre el crecimiento de la raíz. Sin embargo, el crecimiento radical de las enanas extremas es menor que el de las plantas silvestres y la aplicación de giberelinas a los tallos aumenta el crecimiento tanto de tallos como de raíces. Todavía está sin resolver si el efecto de las giberelinas sobre el crecimiento de la raíz es directo o indirecto.

Las giberelinas regulan la transición desde la fase juvenil a la adulta

Muchas plantas leñosas perennes no florecen hasta que alcanzan un cierto estado de madurez; hasta que alcanzan ese estado se dice que son juveniles (véase el capítulo 24). Los estados juvenil y maduro suelen tener hojas de diferentes formas, como la hiedra inglesa (*Hedera helix*) (véase la figura 24.9). La aplicación de giberelinas puede regular esta juvenilidad en ambas direcciones, dependiendo de la especie. En la hiedra inglesa (*Hedera helix*), GA_3 puede provocar la reversión de un estado maduro a uno juvenil y la aplicación de giberelinas no polares, como $GA_4 + GA_7$ puede inducir a muchas coníferas juveniles a entrar en la fase reproductiva. Éste último caso es un ejemplo en el que GA_3 no es efectiva.

Las giberelinas influyen en el inicio de la floración y en la determinación del sexo

Como señalamos anteriormente, las giberelinas pueden sustituir los requerimientos de días fríos o días largos para que se produzca la floración en muchas plantas, especialmente las especies que crecen en roseta (véase el capítulo 24). Las giberelinas son, por tanto, un componente del estímulo de floración en algunas plantas pero, aparentemente, no en otras.

En plantas que tienen flores unisexuales en lugar de hermafroditas, la determinación del sexo de las flores está regulada genéticamente. No obstante, también se ve influida por factores ambientales como el fotoperíodo y el estado nutricional y estos factores ambientales pueden estar mediados por las giberelinas. En maíz, por ejemplo, las flores estaminadas (masculinas) están restringidas a las borlas, mientras que las flores del pistilo (femeninas) se encuentran en la espiga. La exposición a días cortos y noches frías aumenta los niveles endógenos de giberelinas en las borlas unas cien veces y, simultáneamente, provoca la feminización de las flores de la borla. La aplicación de ácido giberélico exógeno a las borlas puede también inducir la producción de flores pistiladas.

En estudios de regulación génica, se han aislado un gran número de mutantes de maíz que tienen alterados los patrones de determinación del sexo. Las mutaciones en genes que afectan a la biosíntesis de giberelinas o a la ruta de transducción de señal de las giberelinas dan lugar a la supresión del desarrollo del estambre en las flores de

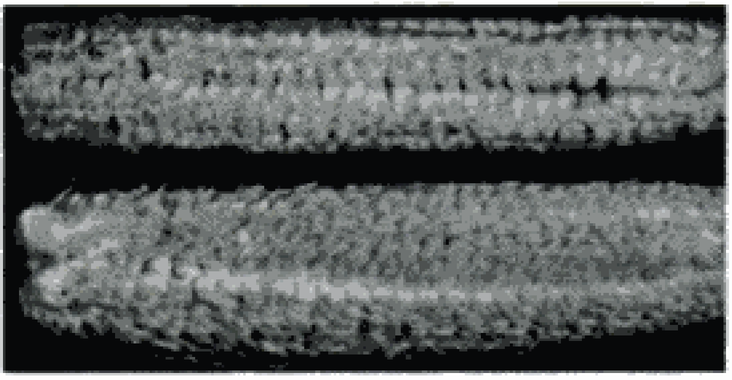


Figura 20.3 El desarrollo de las anteras en mazorcas de un mutante de maíz (*Zea mays*) deficiente en giberelinas. (Abajo) Mazorca no fertilizada de un mutante *an1*, mostrando las anteras visibles. (Arriba) Mazorca de una planta que ha sido tratada con giberelina. (Cortesía de M. G. Neuffer).

la espiga (Figura 20.3). Así, la principal función de las giberelinas en la determinación del sexo en maíz parece ser la supresión del desarrollo del estambre (Irish 1996).

En dicotiledóneas como pepino, cáñamo y espinaca, las giberelinas parecen tener el efecto contrario. En estas especies, la aplicación de giberelinas promueve la formación de flores estaminadas y los inhibidores de la biosíntesis de giberelinas promueven la formación de flores pistiladas.

Las giberelinas promueven el cuajado del fruto

Las aplicaciones de giberelinas pueden inducir el cuajado del fruto (inicio del crecimiento del fruto tras la polinización) y su crecimiento en especies donde las auxinas parecen no tener efecto. Por ejemplo, se ha observado la estimulación del cuajado del fruto con giberelinas en manzana (*Malus sylvestris*).

Las giberelinas promueven la germinación de la semilla

La germinación de las semillas puede requerir giberelinas en alguna etapa: la activación del crecimiento vegetativo del embrión, el debilitamiento de la capa de endospermo constreñida por el crecimiento que rodea al embrión y la movilización de las reservas almacenadas en el endospermo. Algunas semillas, sobre todo de las plantas silvestres, requieren de luz o frío para iniciar la germinación. En dichas semillas, esta dormición (véase el capítulo 23) puede vencerse, aplicando giberelinas. Como sucede en ocasiones, pero no siempre, se observan cambios en los niveles de giberelinas en respuesta a la congelación de las semillas, de modo que las giberelinas pueden representar el regulador natural de uno o más procesos implicados en la germinación.

La aplicación de giberelinas estimula la producción de numerosas hidrolasas, sobre todo la α-amilasa, por la capa de aleurona de los granos de cereales en germinación. Este aspecto de la acción de las giberelinas ha dado lugar a su utilización en la industria alimentaria para la producción de malta (analizado en la siguiente sección). Como éste es el principal sistema en el que las rutas de transducción de señal han sido analizadas, será tratado con más detalle más adelante en este capítulo.

Las aplicaciones comerciales de las giberelinas

Los principales usos de las giberelinas (nos referiremos a GA_3, a menos que señalemos otra giberelina), aplicadas por pulverización o baño, se dan en cultivos de frutos, en la elaboración de malta de cebada y en el aumento del rendimiento de la producción de la caña de azúcar. En algunos cultivos se desea la reducción de la altura, y ésto se logra mediante el uso de inhibidores de la síntesis de giberelinas (véase el **tema web 20.1**).

Producción del fruto Uno de las principales utilidades de las giberelinas es aumentar el tamaño de la uva sin semillas. Debido al reducido tamaño de los tallos de las uvas sin semillas, los racimos de uva están demasiado compactos y se reduce el crecimiento de los frutos. Las giberelinas estimulan la elongación del tallo, permitiendo a las uvas hacerse más grandes al evitar la compactación, que promueve la elongación del fruto (Figura 20.4).

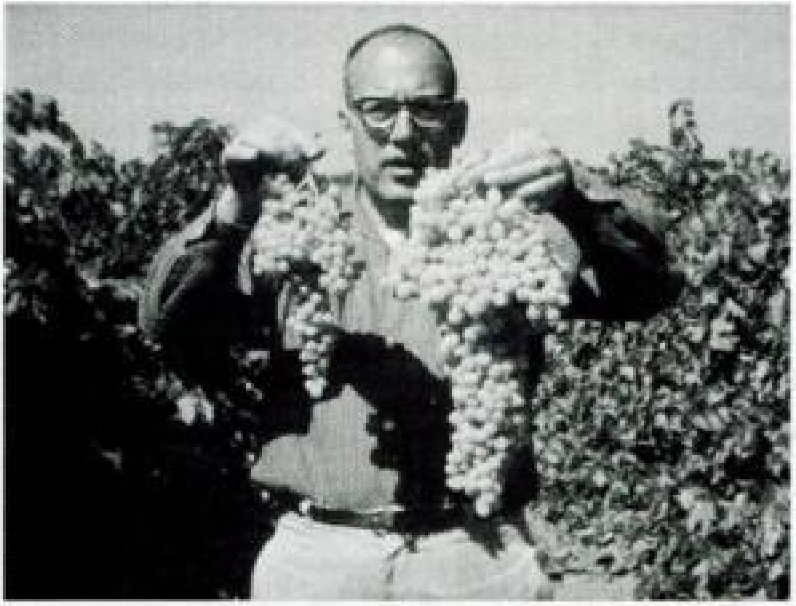


Figura 20.4 Las giberelinas inducen el crecimiento de las uvas de Thomson sin semillas. El racimo de la izquierda es un control no tratado. El racimo de la derecha ha sido pulverizado con giberelinas durante el desarrollo del fruto. (©Sylvan Wittwer / Visuals Unlimited).

El uso de una mezcla de la benciladenina (una citoquinina; véase el capítulo 21) y $GA_4 + GA_7$ pueden producir una elongación de la manzana y se utiliza para mejorar la forma de las manzanas de la variedad *Delicio* en ciertas condiciones. Aunque este tratamiento no afecta a la producción o calidad, se considera comercialmente deseable.

En los cítricos, las giberelinas retrasan la senescencia, por lo que pueden permanecer durante más tiempo en el árbol alargando el periodo comercial.

Elaboración de malta de cebada. Este proceso es la primera etapa en el proceso de elaboración de cerveza. Durante la elaboración de la malta, se produce la germinación de las semillas de cebada (*Hordeum vulgare*) a temperaturas que maximizan la producción de enzimas hidrolíticas por la capa de aleurona. Algunas veces se utilizan las giberelinas para aumentar la velocidad del proceso de elaboración de malta. Las semillas que han germinado, se secan y pulverizan para producir malta que consta principalmente de una mezcla de enzimas amilolíticos (que degradan el almidón) y almidón parcialmente digerido.

En la siguiente etapa de «triturado o macerado», se adiciona agua y las amilasas de la malta convierten el almidón residual, así como el almidón añadido, en el disacárido maltosa, que es convertido en glucosa por el enzima maltasa. El macerado resultante se hierve para detener la reacción. En la etapa final, la levadura convierte la glucosa en etanol por fermentación.

Aumento de la producción de la caña de azúcar. La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) es una de las pocas plantas que almacena sus carbohidratos en forma de azúcar (sacarosa), en lugar de almidón (el otro cultivo importante que almacena azúcar es la remolacha azucarera). Originaria de Nueva Guinea, la caña de azúcar es una herbácea perenne que puede alcanzar una altura entre 4 y 6 m. La sacarosa es almacenada en las vacuolas de las células del parénquima de los entrenudos. El tratamiento con giberelinas puede aumentar el rendimiento de la caña hasta 20 toneladas por acre y la producción de azúcar alrededor de 2 toneladas por acre. Este incremento es el resultado de la estimulación de la elongación de los entrenudos durante el invierno.

Usos en producción vegetal. Las coníferas tienen un largo período juvenil que puede ser perjudicial para la producción vegetal al retrasar la reproducción de los árboles durante años. La aplicación de $GA_4 + GA_7$ puede reducir considerablemente el tiempo de producir semillas al inducir la formación de piñas en los árboles jóvenes. Además, la promoción de la producción de flores masculinas en las cucurbitáceas y la estimulación del crecimiento en los vegetales bianuales como la remolacha (*Beta vulgaris*) y la col (*Brassica oleracea*) son valiosos atributos de las giberelinas que, ocasionalmente, se utilizan comercialmente en la producción de semillas.

Inhibidores de la síntesis de giberelinas. Lo grande no siempre es lo mejor, y los inhibidores de la síntesis de giberelinas se utilizan comercialmente para evitar el crecimiento de algunas plantas. En cultivos florales se desean plantas pequeñas y compactas, como lilas, crisantemos y flores de Pascua y se consigue restringir su crecimiento por aplicación de inhibidores de la síntesis de giberelinas como el ancimidol (conocido comercialmente como A-Rest) o paclobutrazol (conocido como Bonzi).

La altura también es una desventaja para los cultivos de cereales crecidos en climas fríos y húmedos, como en Europa, donde la curvatura del tallo puede ser un problema. El encamado (curvatura del tallo hacia el suelo como consecuencia del peso del agua recogido en las zonas maduras) hace difícil cosechar el grano con una máquina cosechadora. Los entrenudos más cortos reducen la tendencia de las plantas a doblarse hacia el suelo, aumentando el rendimiento del cultivo. Incluso plantas de trigo genéticamente enanas se rocían con inhibidores de la síntesis de giberelinas para reducir la longitud del tallo y su curvatura.

Finalmente, otra aplicación de los inhibidores de la síntesis de giberelinas es la reducción del crecimiento de las plantas arbustivas de los márgenes de la carretera.

BIOSÍNTESIS Y METABOLISMO DE LAS GIBERELINAS

Las giberelinas constituyen una gran familia de ácidos diterpenos y son sintetizados como una ramificación de la **ruta terpenoide**, que ya se describió en el capítulo 13. El descubrimiento de la ruta biosintética de las giberelinas no fue posible hasta que se desarrollaron métodos de detección muy sensibles. Como comentamos antes, las plantas contienen una gran cantidad de giberelinas, muchas de las cuales son *biológicamente inactivas*. En esta sección analizaremos la biosíntesis de las GAs, así como otros factores que regulan los niveles de la forma biológicamente activa de la hormona en diferentes tejidos vegetales.

Las giberelinas se miden a través de técnicas físicas extremadamente sensibles

Los sistemas de medida que utilizan una respuesta biológica, llamados *bioensayos*, fueron inicialmente muy importantes para detectar la actividad de giberelinas en extractos parcialmente purificados y para confirmar la actividad biológica de las giberelinas conocidas (Figura 20.5). Sin embargo, el uso de bioensayos se ha dejado de utilizar a medida que se han desarrollado técnicas físicas de medida que permiten una identificación y cuantificación precisa de giberelinas específicas a partir de pequeñas cantidades de tejido.

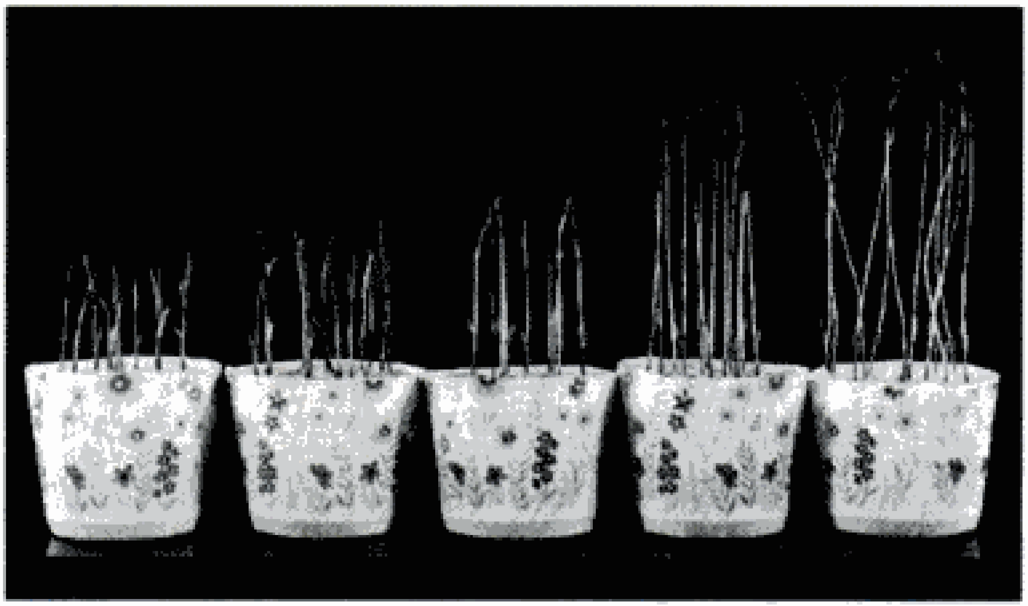
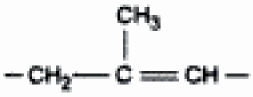


Figura 20.5 Las giberelinas provocan la elongación de la vaina de las hojas de las plántulas de arroz y esta respuesta es utilizada como un bioensayo de la vaina de la hoja de arroz enano. En el ejemplo aquí ilustrado, se trataron plántulas de 4 días de edad con una cantidad de GA que les permitieran crecer durante otros 5 días. (Cortesía de P. Davies).

Actualmente, los métodos más comunes son la cromatografía de gases de alta resolución (HPLC) de extractos vegetales, seguida de los sensibles métodos analíticos de la cromatografía de gases combinada con la espectrometría de masas (GC-MS). Con la disponibilidad de los espectros de masas, los investigadores pueden identificar giberelinas sin necesidad de tener un patrón estándar puro. La disponibilidad de isótopos pesados de las giberelinas comunes, que pueden ser detectados por separado en la espectroscopia de masas, ha permitido la medida precisa de los niveles de estas giberelinas marcadas en tejidos vegetales y su utilización como patrones internos para su cuantificación (véase el **tema web 20.2**).

Las giberelinas se sintetizan a partir de la ruta terpenoide en tres etapas

Las giberelinas son diterpenoides tetracíclicos formados por cuatro unidades de isopreno. Los terpenoides son compuestos formados por bloques de cinco carbonos (isopreno):



$$-\mathrm{CH_2}-\overset{\overset{\textstyle \mathrm{CH_3}}{|}}{\mathrm{C}}=\mathrm{CH}-$$

unidos cabeza con cola. Los investigadores han determinado la ruta completa de la biosíntesis de las giberelinas en semillas y tejidos vegetativos de varias especies,

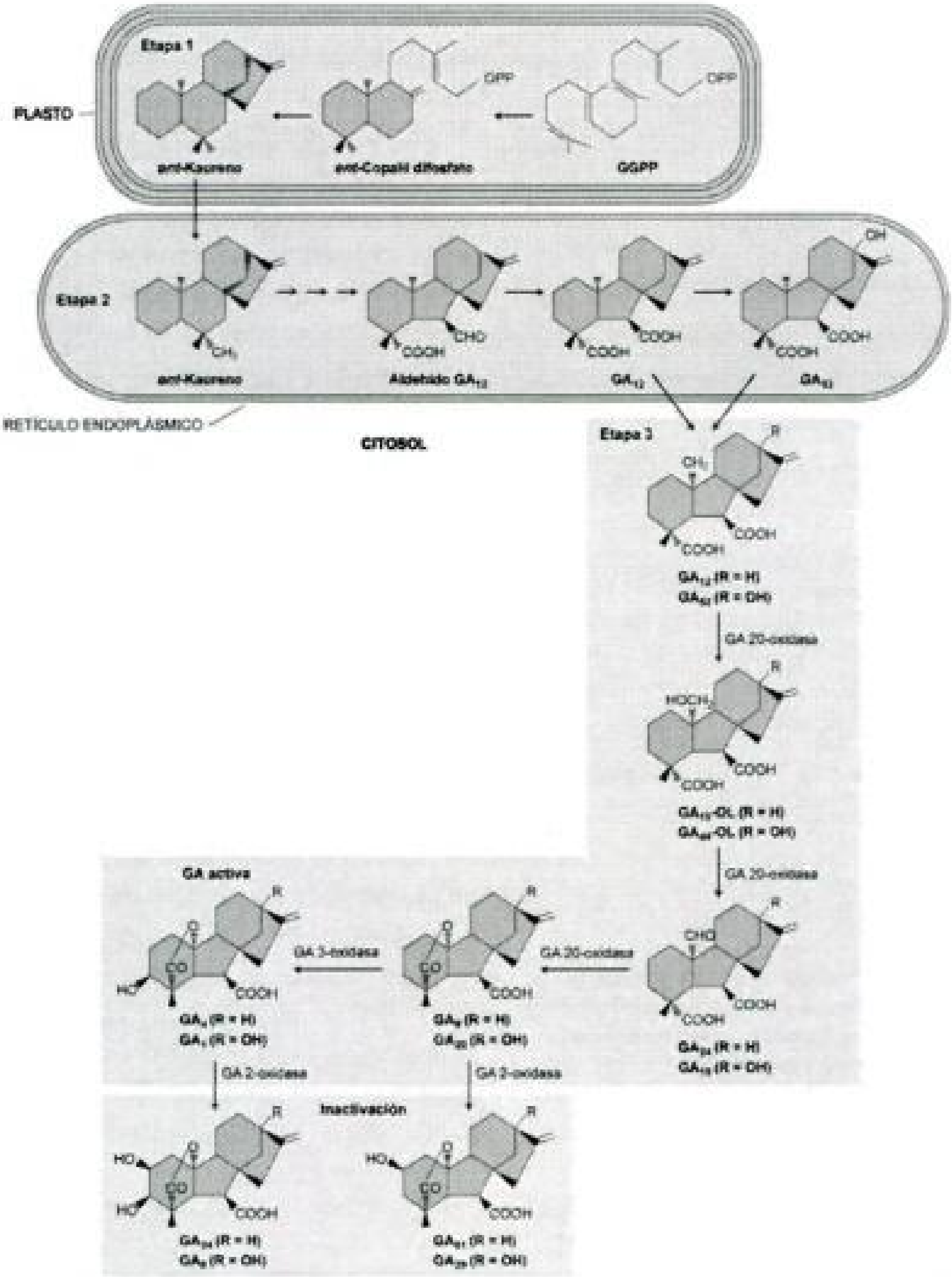

Etapa 1
PLASTO
ent-Kaureno
ent-Copalil difosfato
GGPP
OPP
Etapa 2
ent-Kaureno
Aldehído GA12
GA12
GA53
CH3
CHO
COOH
OH
RETÍCULO ENDOPLÁSMICO
CITOSOL
Etapa 3
GA12 (R = H)
GA53 (R = OH)
GA 20-oxidasa
HOCH2
GA15-OL (R = H)
GA44-OL (R = OH)
GA 20-oxidasa
CHO
GA24 (R = H)
GA19 (R = OH)
GA 20-oxidasa
GA9 (R = H)
GA20 (R = OH)
GA 3-oxidasa
GA activa
GA4 (R = H)
GA1 (R = OH)
GA 2-oxidasa
GA 2-oxidasa
Inactivación
GA34 (R = H)
GA8 (R = OH)
GA51 (R = H)
GA29 (R = OH)
R
CO
HO
COOH

Figura 20.6 Las tres etapas de la biosíntesis de giberelinas. En la etapa 1, el geranilgeranil difosfato (GGPP) es convertido a *ent*-kaureno a través de la copalilfosfatasa (CPP) en los plastos. En la etapa 2, que tiene lugar en el retículo endoplásmico, el *ent*-kaureno es convertido a GA_{12} o a GA_{53}, dependiendo de si la GA está hidroxilada en el carbono 13. En la mayoría de las plantas predomina la ruta de hidroxilación del carbono 13, aunque en *Arabidopsis* y algunas otras especies la ruta principal es la que no está hidroxilada en el carbono 13. En la etapa 3 en el citosol, GA_{12} o GA_{53} son convertidas en las diferentes GAs. Esta conversión se produce por una serie de oxidaciones en el carbono 20. En la ruta de hidroxilación del C-13 se genera GA_{20}. La GA_{20} es entonces oxidada a la giberelina activa, GA_1, por una reacción de 3β-hidroxilación (el equivalente sin el 13-OH es la GA_4). Finalmente, las hidroxilaciones en el carbono 2 convierten GA_1 en las formas inactivas GA_{29} y GA_8, respectivamente.

suministrándoles varios precursores radiactivos e intermediarios y examinando la producción de otros compuestos de la ruta (Kobayashi y col. 1196).

La ruta biosintética de las giberelinas se puede dividir en tres etapas, cada una de las cuales se produce en un compartimento celular diferente (Figura 20.6) (Hedden y Philips 2000).

Etapa 1: Producción de precursores terpenoides y *ent*-kaureno en los plastos. La unidad biológica básica del isopreno es isopentenil difosfato (IPP)[2]. El IPP es utilizado en la biosíntesis de giberelinas en los tejidos verdes y es sintetizado en los plastos a partir del gliceraldehído-3-fosfato y el piruvato (Lichtenthaler y col. 1997). Sin embargo, en el endospermo de semillas de calabaza, que son muy ricas en giberelinas, el IPP se forma en el citosol a partir del ácido mevalónico, que a su vez deriva del acetil CoA. Así, el IPP utilizado en la síntesis de las giberelinas puede proceder de diferentes compartimentos celulares en diferentes tejidos.

Una vez sintetizadas, las unidades del isopreno IPP se añaden sucesivamente para formar intermediarios de 10 carbonos (geranil difosfato), 15 carbonos (farnesil difosfato) y de 20 carbonos (geranilgeranil difosfato, GGPP). El GGPP es un precursor de muchos compuestos terpenoides, incluidos carotenoides y muchos aceites esenciales y sólo después de la biosíntesis del GGPP la ruta se convierte en específica de las giberelinas.

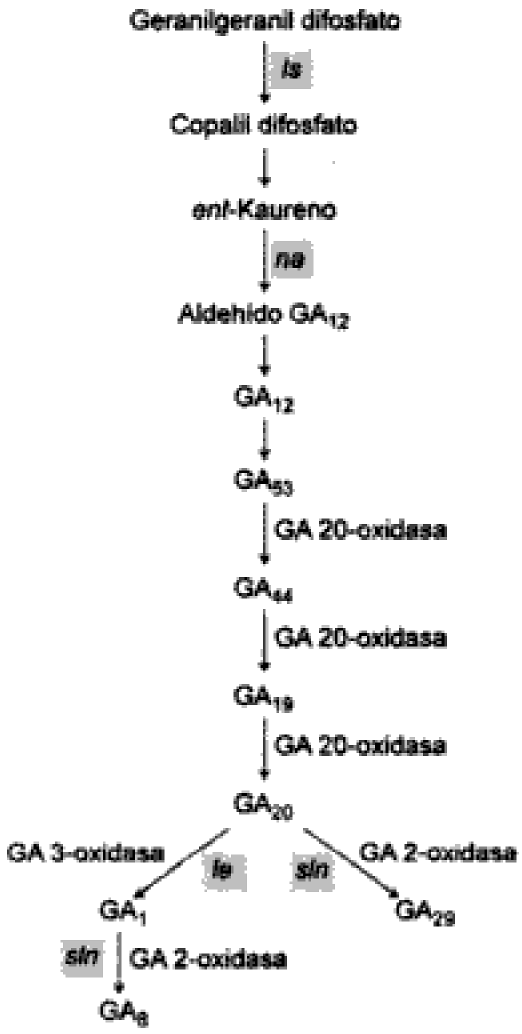


Figura 20.7 Una parte de la ruta biosintética de las giberelinas mostrando las abreviaturas y localización de los genes mutantes que bloquean la ruta en guisante y los enzimas implicados en las etapas metabólicas posteriores a GA_{53}.

La primera etapa específica de las giberelinas son las reacciones de ciclación que convierten el GGPP en *ent*-kaureno (Figura 20.7). Los dos enzimas que catalizan las reacciones están localizados en los proplastos de los tejidos meristemáticos de los tallos y no están presentes en los cloroplastos maduros (Aach y col. 1997). Así, las hojas pierden su capacidad de sintetizar giberelinas a partir de IPP cuando sus cloroplastos maduran.

---

[2] Como señalamos en el capítulo 13, IPP es la abreviatura de isopentenil *piro*fosfato, un nombre asignado antiguamente a este compuesto. Del mismo modo, los otros intermediarios pirofosforilados en la ruta se conocen actualmente como *di*fosfatos, pero continúan abreviándose como cuando se designaban como *piro*fosfatos.

Compuestos como el AMO-1618, Cycocel y Fosfón D son inhibidores específicos de la primera etapa de la biosíntesis de las giberelinas y se utilizan como reductores del crecimiento en altura.

Estapa 2: Las reacciones de oxidación en el RE forman GA_{12} y GA_{53}. En la segunda etapa de la biosíntesis de las giberelinas, un grupo metilo del *ent*-kaureno se oxida a ácido carboxílico, y a continuación se produce la contracción del anillo B de un anillo de 6 a uno de 5 carbonos para dar el aldehído de la GA_{12}. El aldehído de la GA_{12} se oxida para dar **GA_{12}**, la primera giberelina que se forma en la ruta de todas las plantas y, por tanto, precursora del resto de giberelinas (véase la figura 20.6).

Muchas de las giberelinas vegetales son también hidroxiladas en el carbono 13. La hidroxilación del carbono 13 se produce a continuación, formando GA_{53} a partir de GA_{12}. Todos los enzimas implicados son monooxigenasas que utilizan el citocromo P450 en sus reacciones. Estas monooxigenasas P450 están localizadas en el retículo endoplásmico. El kaureno se transporta desde el plasto al retículo endoplásmico y entonces es oxidado *y convertido* a ácido kaurénico por la kaureno oxidasa, que está asociada con la envoltura del plasto (Helliwell y col. 2001).

Las posteriores conversiones tienen lugar en el retículo endoplásmico. El paclobutrazol y otros inhibidores de las monooxigenasas P450 inhiben específicamente esta etapa de la biosíntesis de las giberelinas, antes del aldehído de la GA_{12}, y por ello son retardantes del crecimiento.

Estapa 3: La formación en el citosol de otras giberelinas a partir de GA_{12} o GA_{53}. Todas las etapas posteriores de la ruta (véase la figura 20.6) son llevadas a cabo por un grupo de dioxigenasas en el citosol. Estos enzimas necesitan 2-oxoglutarato y oxígeno molecular como cosustratos y utilizan Fe^{2+} y ascorbato como cofactores.

Las etapas específicas de la modificación de GA_{12} varían de unas especies a otras, e incluso entre organismos de la misma especie. Los cambios químicos básicos se producen en la mayoría de las plantas son dos:

1. Una hidroxilación en el carbono 13 (en el retículo endoplásmico) o en el carbono 3, o en ambos.
2. Una oxidación sucesiva del carbono 20 ($CH_2 \rightarrow CH_2OH \rightarrow CHO$). La etapa final de esta oxidación es la pérdida del carbono 20 en forma de CO_2 (véase la figura 20.6).

Cuando estas reacciones implican a las giberelinas inicialmente hidroxiladas en el C-13, la giberelina resultante es GA_{20}. La GA_{20} es entonces convertida en la forma biológicamente activa, GA_1, por hidroxilación del carbono 3 (como está en una configuración beta [dibujada como si el enlace con el grupo hidroxilo estuviera hacia el lector], se la conoce como la 3β-hidroxilación.)

Finalmente, GA_1 es inactivada por su conversión a GA_8, por hidroxilación en el carbono 2. Esta hidroxilación puede también eliminar GA_{20} de la ruta biosintética al convertirla en GA_{29}.

Los inhibidores de la tercera etapa de la ruta de biosíntesis de las giberelinas interfieren con enzimas que utilizan el 2-oxoglutarato como cosustrato. Entre ellos, el compuesto prohexadiona (BX-112) es especialmente útil porque inhibe específicamente a la GA 3-oxidasa, el enzima que convierte la GA_{20} (inactiva) en la GA_1 (activadora del crecimiento).

Se han caracterizado los enzimas y los genes de la ruta de biosíntesis de las giberelinas

Actualmente se conocen los enzimas de la ruta de biosíntesis de las giberelinas, y se han aislado y caracterizado los genes de muchos de estos enzimas (véase la figura 20.7). Los dos puntos clave de la regulación son las enzimas biosintéticas (GA 20-oxidasa, GA*20ox*)[3] y la GA 3-oxidasa, GA*3ox*) y un enzima implicado en el metabolismo de las giberelinas, GA 2-oxidasa (GA*2ox*):

- **GA 20-oxidasa** cataliza todas las reacciones implicadas en las sucesivas etapas de oxidación del carbono 20 entre GA_{53} y GA_{20}, incluida la eliminación del C-20 en forma de CO_2.
- **GA 3-oxidasa** funciona como una 3β-hidroxilasa, añadiendo un grupo hidroxilo al C-3 para formar la giberelina activa, GA_1 (las evidencias que demuestran que la GA_1 es la giberelina activa se analizarán posteriormente.)
- **GA 2-oxidasa** *inactiva* GA_1 al catalizar la adición de un grupo hidroxilo al C-2.

La transcripción de los genes de los dos enzimas biosintéticos de las giberelinas, así como la de la GA 2-oxidasa, está estrictamente regulada. Todos estos genes tienen secuencias comunes entre sí y con otros enzimas que utilizan el 2-oxoglutarato y el Fe^{2+} como cofactores. Las secuencias comunes representan los sitios de unión del 2-oxoglutarato y del Fe^{2+}.

---

[3] GA 20-*oxidasa* es el enzima que oxida al carbono 20; no es lo mismo que GA_{20}, que es la giberelina 20 en el esquema numerado de las GAs.

Las giberelinas pueden estar unidas covalentemente a azúcares

Aunque las giberelinas activas están libres, se conoce una gran variedad de glicósidos formados por la unión covalente de una giberelina y un azúcar. Estos conjugados de giberelinas predominan sobre todo en algunas semillas. El azúcar con el que se conjugan normalmente es la glucosa y puede unirse a una glucosa a través del grupo carboxilo, dando lugar a una giberelina glucósido, o a un grupo hidroxilo, dando lugar a una giberelina glucosil-éter.

Cuando se aplican giberelinas a una planta, una cierta proporción es glucosilada. La glucosilación puede, por tanto, representar otra forma de inactivación. En algunos casos, los glucósidos son metabolizados de nuevo a GAs libres, por lo que los glucósidos pueden construir una reserva de giberelinas (Schneider y Schmidt 1990).

La GA_1 es la giberelina biológicamente activa en el control del crecimiento del tallo

El conocimiento de las rutas biosintéticas de las giberelinas revela dónde y cómo actúan las mutaciones que producen enanismo. Aunque durante mucho tiempo se supuso que las giberelinas eran los reguladores naturales del crecimiento del tallo vegetal, ya que las aplicaciones de giberelinas a plantas enanas hacían que éstas crecieran, no existían evidencias directas de ello. A principios de la década de 1980, se demostró que los tallos altos contenían más giberelina biológicamente activa que los tallos enanos, y que el nivel de giberelina bioactiva endógena media el control génetico de la altura (Reid y Howell 1995).

Se compararon las giberelinas de plantas altas de guisante que contienen el alelo homocigoto *Le* (tipo silvestre) con las de plantas enanas que tenían la misma composición genética, excepto porque contienen el alelo *le* (mutante). *Le* y *le* son los dos alelos del mismo gen que regulan la altura en guisante, la primera característica genética investigada por Gregor Mendel en sus estudios pioneros en 1866. En la actualidad sabemos que las plantas altas de guisante contienen más GA_1 que las plantas enanas (Ingram y col. 1983).

Como hemos visto, el precursor de la GA_1 de las plantas superiores es la GA_{20} (GA_1 es 3β-OH de GA_{20}). Si la GA_{20} se aplica a plantas de guisante homocigotas enanas (*le*), no responden, pero sí lo hacen al aplicar GA_1. La explicación es que el gen *Le* confiere a las plantas la capacidad de convertir GA_{20} a GA_1. Los estudios metabólicos utilizando isótopos estables y radioisótopos demostraron de forma concluyente que el gen *Le* codifica un enzima que 3β-hidroxila la GA_{20} para producir GA_1 (véase la figura 20.8).

El gen *Le* de Mendel fue posteriormente aislado y se demostró que el alelo recesivo *le* tenía un cambio en una única base que daba lugar a un enzima defectuoso con

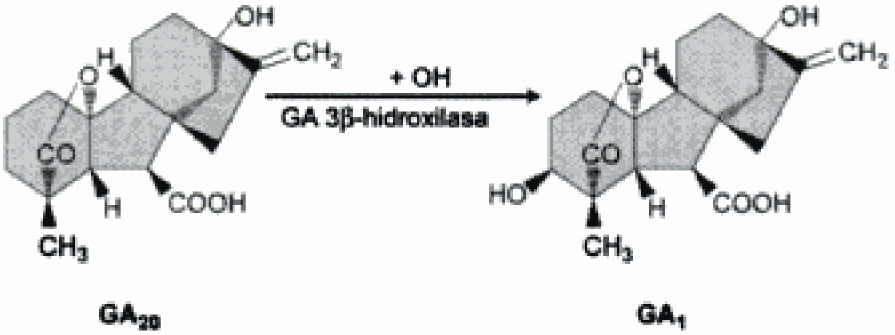


Figura 20.8 Conversión de GA_{20} en GA_1 por la GA 3b-hidroxilasa, que añade un grupo hidroxilo al carbono 3 de GA_{20}.

una actividad igual a la veinteava parte de la actividad del enzima tipo silvestre, por lo que se produce mucha menos GA_1 y las plantas resultan enanas (Lester ycol. 1997).

Los niveles endógenos de GA_1 están correlacionados con la altura

Aunque los tallos de las plantas enanas de guisante *le* deficientes en giberelinas son mucho más cortos que los de plantas normales (entrenudos de 2 cm en las plantas enanas maduras frente a los de 15 cm de las plantas maduras silvestres), la mutación «es débil» (es decir, el gen mutado produce una cierta cantidad de enzima activo) y al-

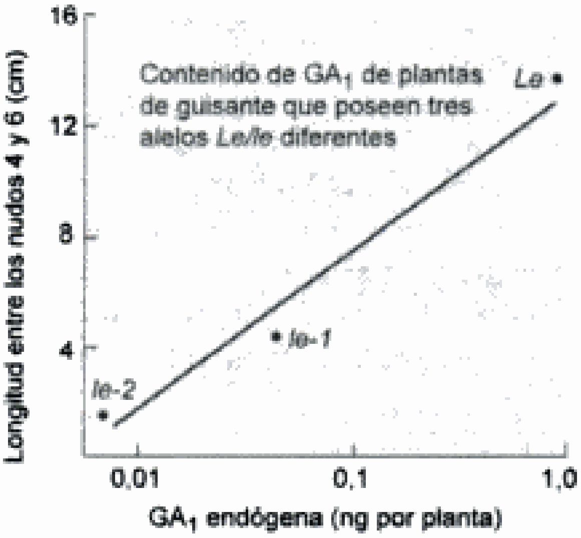


Figura 20.9 La elongación del tallo está íntimamente relacionada con el nivel de GA_1. Aquí se representa el contenido de GA_1 en guisantes con tres alelos diferentes en el locus Le frente a la elongación del entrenudo en plantas con dichos alelos. El alelo *le*-2 es el alelo de *Le* que presenta un mayor.enanismo, mientras que *le*-1 es un alelo regular. Hay una estrecha correlación entre el nivel de GA_1 y la elongación del entrenudo (Según Ross y col. 1989).

go de GA_1 endógeno es capaz de inducir crecimiento. Diferentes alelos *le* permiten que las plantas de guisante alcancen diferentes alturas, habiéndose correlacionado la altura de la planta con la cantidad de GA_1 endógena (Figura 20.9).

Hay un mutante de guisante extremadamente enano que apenas tiene giberelinas. Este mutante enano tiene el alelo *na* (el alelo del tipo silvestre es *Na*), que bloquea completamente la biosíntesis de las giberelinas entre el *ent*-kaureno y el aldehído de la GA_{12} (Reid y Howell 1995 1987). En consecuencia, los mutantes homocigotos (*nana*) que carecen casi por completo de giberelinas libres, alcanzan una altura de aproximadamente 1 cm en su madurez (Figura 20.10).

Sin embargo, las plantas *nana* pueden tener una GA 3β-hidroxilasa codificada por *Le,* convirtiendo GA_{20} en GA_1. Si un tallo *nana naLe* es injertado sobre una planta enana *le*, el resultado es una planta alta, porque el ápice del tallo *nana* puede convertir GA_{20} de la planta enana en GA_1.

Todas estas observaciones condujeron a la conclusión que la GA_1 es la giberelina biológicamente activa que regula la altura en guisante (Ingram y col. 1986; Davis 1995). En estudios paralelos con plantas de maíz, una monocotiledónea, se ha obtenido el mismo resultado, utilizando genotipos que tienen bloqueada la ruta de biosíntesis de giberelinas. Así, parece que el control del sistema de elongación por GA_1 es universal.

Aunque GA_1 parece ser la principal giberelina biológicamente activa en el crecimiento del tallo en la mayoría de las especies, se han encontrado algunas gi-

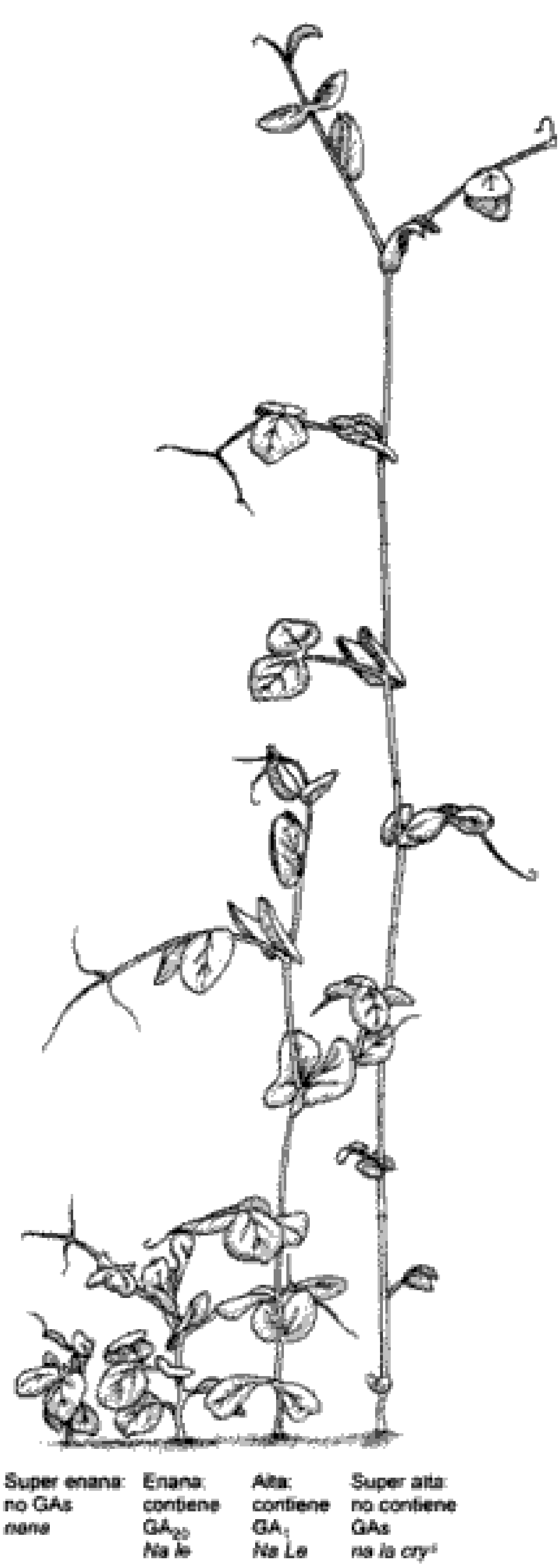
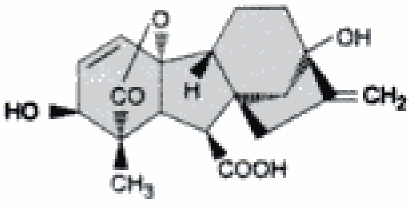

Super enana: no GAs nana
Enana: contiene GA_{20} Na le
Alta: contiene GA_1 Na Le
Super alta: no contiene GAs na la cry^{s}

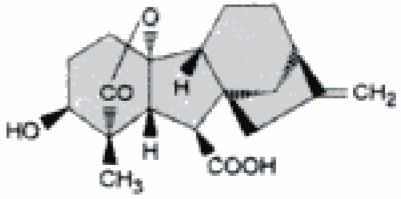
Figura 20.10 Los fenotipos y genotipos de guisante difieren en el contenido de giberelinas de su tejido vegetativo. (Todos los alelos son homocigotos). (Según Davies 1995).

berelinas con actividad biológica en otras especies o tejidos. Por ejemplo, GA_3, que se diferencia de GA_1 en un único doble enlace, es relativamente rara en las plantas superiores, pero es capaz de sustituir a GA_1 en la mayoría de los bioensayos:



Ácido giberélico (GA_3)

La GA_4, que carece de un grupo OH en el C-13, está presente en *Arabidopsis* y en otros miembros de la familia de la calabaza (Cucurbitaceae). Es tan activa como GA_1, o incluso más, en algunos bioensayos, indicando que GA_4 es una giberelina activa en las especies en las que se produce (Xu y col. 1997). La estructura de GA_4 es la siguiente:



Giberelina A_4 (GA_4)

Las giberelinas son biosintetizadas en los tejidos apicales

Los niveles más elevados de giberelinas se encuentran en las semillas inmaduras y en los frutos en desarrollo. Sin embargo, como el nivel normal de giberelinas es prácticamente nulo en las semillas maduras, no hay evidencias de que las plántulas obtengan alguna giberelina activa de sus semillas.

Investigaciones en guisante indican que los enzimas de biosíntesis de la giberelina y *GA3ox* están localizados específicamente en las yemas jóvenes que tienen un crecimiento activo, en las hojas jóvenes y en los entrenudos superiores (Elliott y col. 2001). En *Arabidopsis*, *GA20ox* se expresa principalmente en la yema apical y en las hojas jóvenes, que parecen ser los principales lugares de síntesis de giberelinas (Figura 20.11).

Las giberelinas que son sintetizadas en el ápice pueden ser transportadas al resto de la planta a través del floema. Los intermediarios de la biosíntesis de giberelinas también pueden ser transportados por el floema. De hecho, las etapas iniciales de la

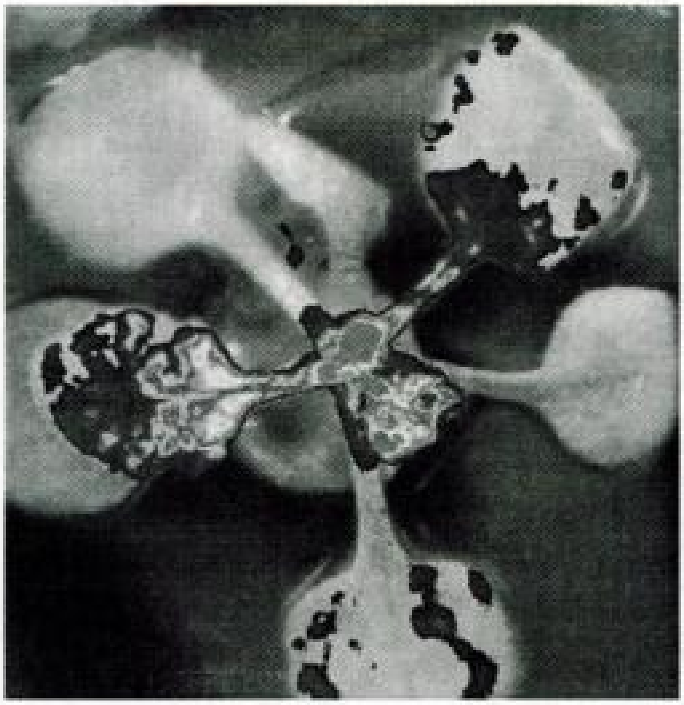


Figura 20.11 Las giberelinas se sintetizan principalmente en el ápice del tallo en las hojas jóvenes en desarrollo. Esta falsa imagen en color muestra la luz emitida por las plantas transgénicas de *Arabidopsis* que se expresan por el gen de la luciferasa de la luciérnaga que codifica una secuencia acoplada al promotor del gen GA20ox. La luz emitida fue grabada con una cámara después de que la roseta fuera pulverizada con el sustrato luciferina. La imagen fue entonces coloreada para intensificarla y luego fue superpuesta sobre una fotografía de la misma planta. Las regiones de color rojo y amarillo corresponden a las intensidades mayores de luz. (Cortesía de Jeremy P. Coles, Andrew L. Phillips y Meter Hedden, IACR-Long Ashton Research Station). (Véase la fotografía en color en el CD.)

biosíntesis de giberelinas se pueden producir en un tejido, y el metabolismo de las giberelinas activas en otro.

Las giberelinas también se han identificado en los exudados y extractos de raíz, lo que sugiere que las raíces también pueden sintetizar giberelinas y transportarlas al ápice a través del xilema.

Las giberelinas regulan su propio metabolismo

Las giberelinas endógenas regulan su propio metabolismo bien por activar o inhibir la transcripción de los genes que codifican la biosíntesis y degradación de las giberelinas (retroalimentación y regulación positiva, respectivamente). En este sentido, el nivel de giberelinas activas se mantiene en un estrecho margen, dado que los precursores están disponibles y los enzimas de la biosíntesis y degradación de giberelinas son funcionales.

Por ejemplo, la aplicación de giberelinas provoca una reducción de los genes biosintéticos (GA*20ox* y GA*3ox*) y un aumento de la transcripción del gen encargado de

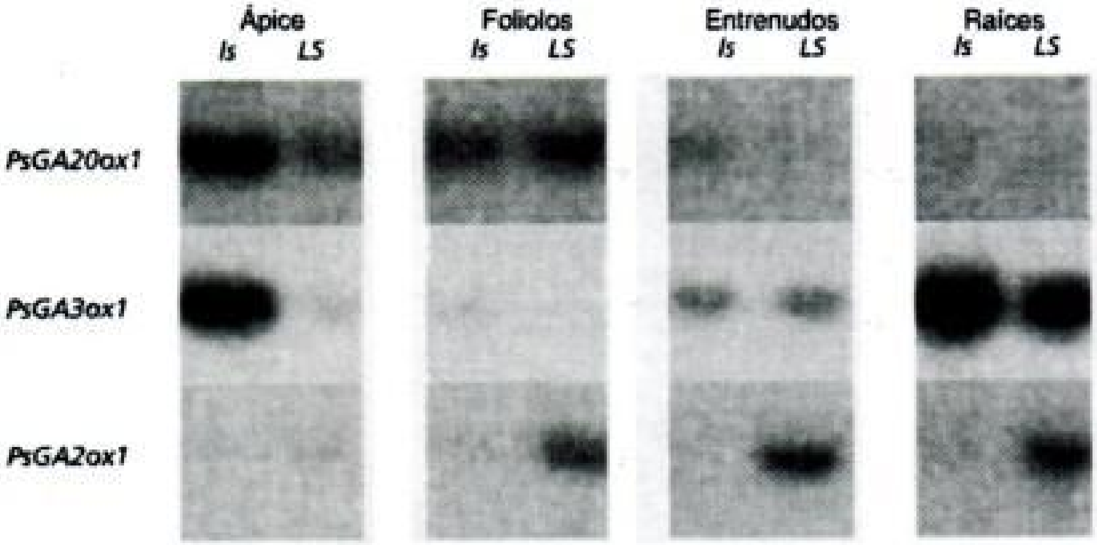


Figura 20.12 Northern de mRNA de los enzimas de la biosíntesis de las giberelinas en diferentes tejidos de guisantes, a mayor intensidad de la banda, mayor presencia de mRNA. Las plantas designadas como *LS* son las plantas altas de tipo silvestre. Las plantas designadas como *ls* son las mutantes enanas debido a un defecto en la copalil difosfato sintasa que crea un bloqueo en la ruta de biosíntesis de GA. La diferencia en la intensidad de las manchas muestra que el bajo nivel de GA, de las plantas mutantes *ls* provocan una regulación en algún punto anterior a la biosíntesis de GA, por GA2ox y GA3ox, y representa la ruptura de GA, por GA2ox. (Según Elliott y col. 2001).

la degradación (GA*2ox*) (Hedden y Phillips 2000; Elliott y col. 2001). Una mutación en el gen de la GA 2-oxidasa, que impide que GA$_1$ sea degradado, es funcionalmente equivalente a la aplicación de giberelinas exógenas en la planta y produce el mismo efecto sobre la transcripción para la biosíntesis del gen.

Por el contrario, una mutación que reduce el nivel de giberelina activa en la planta, como GA1, estimula la transcripción de los genes biosintéticos (GA20ox y GA3ox) e inhibe la transcripción del enzima encargado de la degradación (GA2ox). En guisante, este efecto es particularmente evidente en plantas muy enanas, como aquéllas que tienen la mutación en el gen LS (CPP sintasa) o en aquellas plantas na que son extremadamente enanas (con defecto en la GA$_{12}$ aldehído sintasa) (Figura 20.12).

Las condiciones ambientales pueden alterar la transcripción de los genes de la biosíntesis de giberelinas

Las giberelinas juegan un papel importante en la mediación de los efectos de los estímulos ambientales sobre el desarrollo vegetal. Factores ambientales como el fotoperíodo y la temperatura pueden alterar los niveles de giberelinas activas al afectar la transcripción de genes en etapas específicas de la ruta de biosíntesis (Yamaguchi y Kamiya 2000).

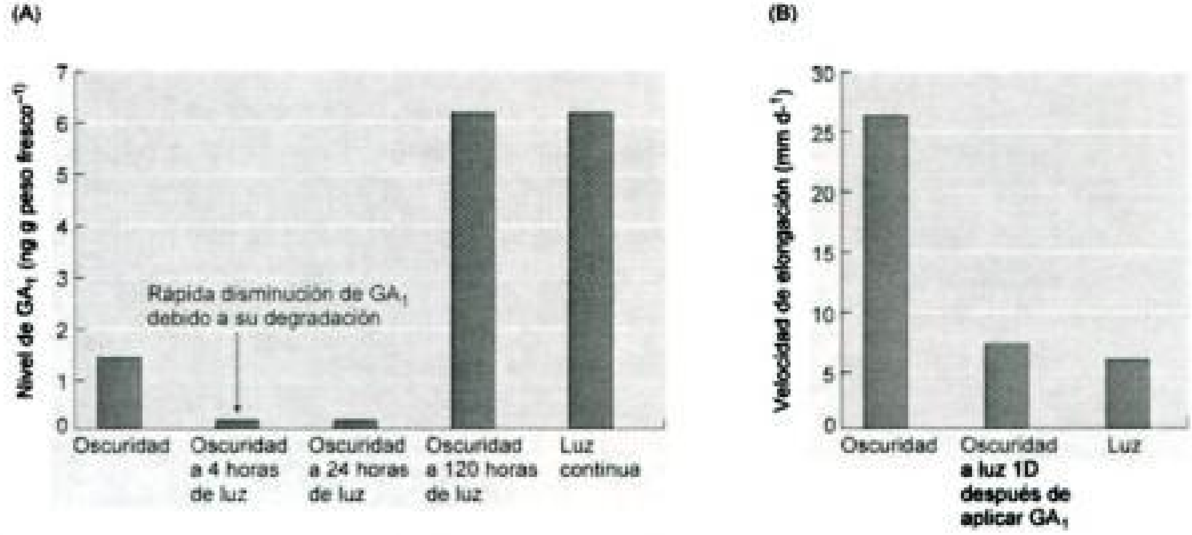


Figura 20.13 Cuando una planta crece en presencia de luz, la velocidad de extensión se reduce por la regulación de los cambios en los niveles hormonales y en sensibilidad. (A) Cuando plántulas de guisantes que han crecido en oscuridad son transferidas a la luz, el nivel de GA_1 decae rápidamente debido al metabolismo de GA_1, pero aumenta a niveles superiores, similar a los de las plantas que han crecido en presencia de luz, al cabo de 4 días. (B) Para investigar la respuesta de GA_1 en diferentes condiciones de luz, se aplicaron 10 mg de GA_1 al entrenudo de plantas *na* deficientes en GA en oscuridad, un día después del inicio de la luz, ó 6 días después de luz continua, y se midió el crecimiento en las 24 horas siguientes. Los resultados muestran que la sensibilidad a la giberelina en plántulas de guisante decae rápidamente tras la transferencia desde la oscuridad a la luz, por lo que la velocidad de elongación de las plantas en presencia de luz es menor que la velocidad de elongación de las plantas en oscuridad, incluso si el contenido total de GA_1 es alto. (Según O'Neill y col. 2000).

La regulación de la biosíntesis de GA_1 por la luz. La presencia de luz tiene efectos muy importantes en la biosíntesis de las giberelinas. Algunas semillas germinan únicamente con luz y, en estos casos, la aplicación de giberelinas puede estimular su germinación en condiciones de oscuridad. Se ha demostrado que la promoción de la germinación por la luz es debida al aumento de los niveles de GA_1 como consecuencia de un aumento de la transcripción del gen de la *GA3ox* inducida por la luz, que convierte GA_{20} en GA_1 (Toyomasu y col. 1998). Este efecto demuestra la fotorreversibilidad del rojo/rojo lejano y está mediado por el fitocromo (véase el capítulo 17).

Cuando una plántula se expone a la luz a medida que emerge del suelo cambia su forma (Capítulo 17), proceso conocido como desetiolación. Uno de los cambios más llamativos es el descenso de la velocidad de crecimiento del tallo, de modo que el tallo en presencia de luz es más corto que en oscuridad. Inicialmente, se pensó que las plantas que crecían con luz podían contener menos GA_1 que las plantas que lo hacían en oscuridad. Sin embargo, las plantas que han crecido con luz contenían más GA_1 que las plantas que han crecido en oscuridad, indicando que la desetiolación es un complejo complicado que implica cambios a nivel de GA_1, así como también cambios en la sensibilidad de la planta a GA_1.

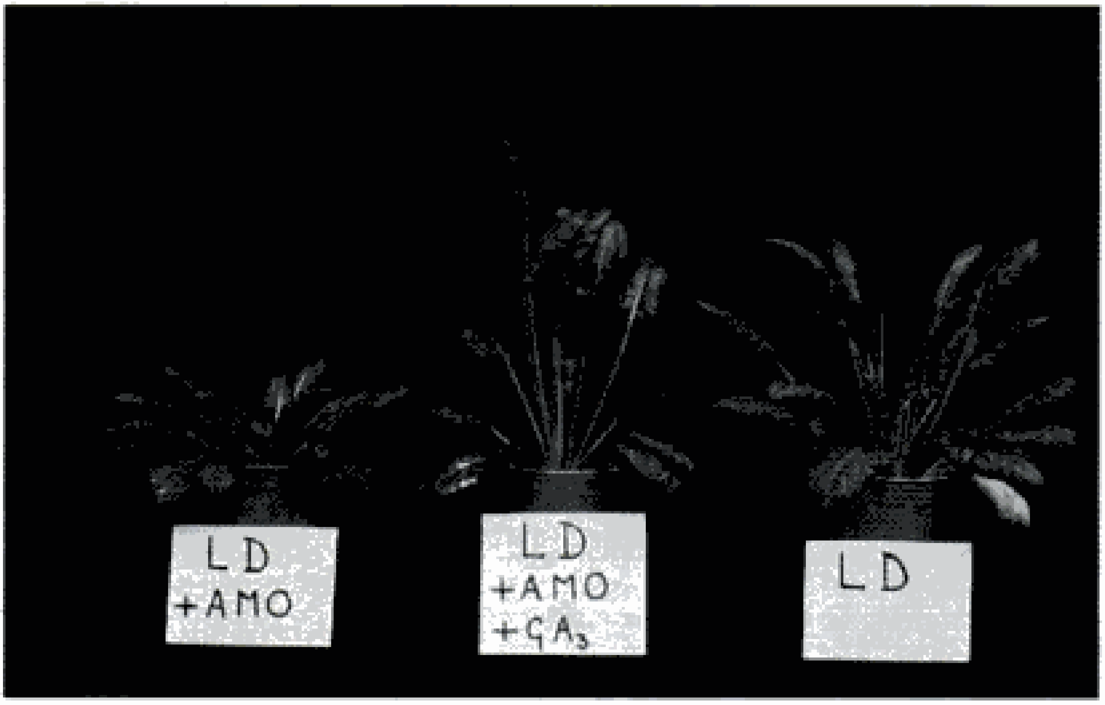


Figura 20.14 Plantas de espinacas que emergen sólo en días largos, permanecen en forma roseta en días cortos. El tratamiento con AMO-1618, un inhibidor de la biosíntesis de GA, evita la elongación del tallo y el pecíolo y mantiene el crecimiento en roseta típico de los días cortos. El ácido giberélico puede invertir el efecto de AMO-1618 sobre la elongación del tallo y del pecíolo. Como se muestra en la figura 20.16, los días largos provocan cambios en el contenido de giberelinas de la planta. (Cortesía de J. A. D. Zeevaart).

En guisante, por ejemplo, el nivel de GA_1 disminuye inicialmente a las 4 horas de la exposición a la luz, como consecuencia del aumento de la transcripción del gen de la GA*2ox*, provocando un aumento de la degradación de GA_1 (Figura 20.13A). El nivel de GA_1 permanece bajo durante un día, posteriormente empieza a aumentar, de modo que a los cinco días ha aumentado unas cinco veces en los tallos, incluso a pesar de que la velocidad de elongación del tallo es menor (Figura 20.13B). La razón de este crecimiento reducido, a pesar del aumento en el nivel de GA_1, es que las plantas en ese momento son *varias veces menos sensibles* a la GA_1 presente.

Como analizaremos más adelante en este capítulo, la sensibilidad a la giberelina activa está mediada por componentes de la ruta de transducción de la señal de las giberelinas.

La regulación de la biosíntesis de GA_1 por el fotoperíodo. Cuando plantas que requieren días largos para florecer (véase el capítulo 24) son transferidas de días cortos a días largos, se altera el metabolismo de las giberelinas. En espinaca (*Spinacia oleracea*) las plantas en días cortos se mantienen en roseta (Figura 20.14) y el nivel de giberelinas hidroxiladas en el carbono 13 es relativamente bajo. En respuesta a un aumento de la longitud del día, los tallos de las plantas de espinaca empiezan a elongarse después de 14 días largos.

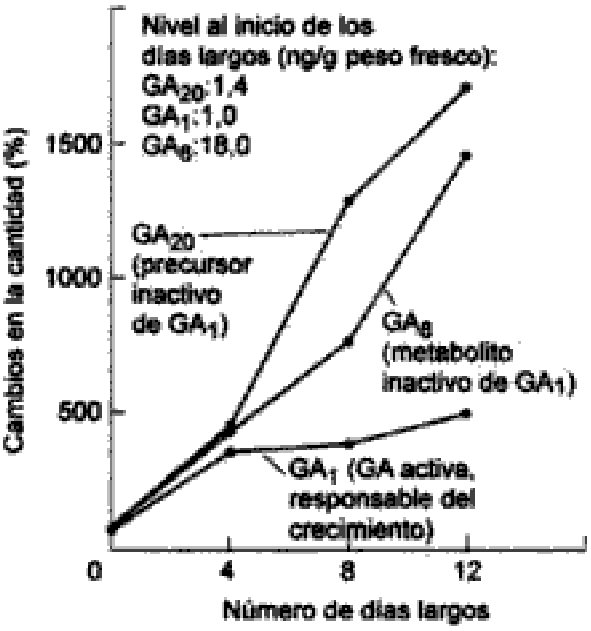


Figura 20.15 El aumento de cinco veces de GA_1 es lo que provoca el crecimiento en espinaca expuesta a un número creciente de días largos, pero antes de que la elongación del tallo se inicie a los 14 días. (Según Davies 1995; redibujado a partir de los datos de Zeevaart y col. 1993).

Los niveles de todas las giberelinas de la ruta de la hidroxilación en el carbono 13 ($GA_{53} \rightarrow GA_{44} \rightarrow GA_{19} \rightarrow GA_{20} \rightarrow GA_1 \rightarrow GA_8$) empiezan a aumentar a los 4 días (Figura 20.15). Aunque el nivel de GA_{20} aumenta 16 veces en los primeros 12 días, es el aumento de cinco veces de la GA_1 lo que induce el crecimiento del tallo (Zeevaart y col. 1993).

La dependencia del crecimiento del tallo de la GA_1 se ha demostrado mediante el uso de inhibidores de la síntesis y del metabolismo de las giberelinas. Así, los inhibidores AMO-1618 y BX-112 impiden la elongación del entrenudo. El efecto de AMO-1618, que bloquea la biosíntesis de giberelina en un punto anterior al aldehído de la GA_{12}, puede ser superado por la aplicación de GA_{20} (Figura 20.16A). Sin embargo, el efecto del otro inhibidor, BX-112, que bloquea la producción de GA_1 a partir de GA_{20}, sólo puede ser superado por la aplicación de GA_1 (Figura 20.16B). Este resultado demuestra que el factor esencial en la regulación del crecimiento del tallo en espinaca es el nivel de GA_1.

El nivel del mRNA correspondiente a la GA 20-oxidasa en tejidos de espinaca, que alcanza cantidades más elevadas en los ápices de los brotes y en los tallos en crecimiento (véase la figura 20.11), aumenta en condiciones de día largo (Wu y col. 1996). El hecho de que la GA 20-oxidasa sea el enzima que convierte GA_{53} en GA_{20} (véase la figura 20.7) explica por qué la concentración de GA_{20} se encuentra en concentraciones tan elevadas en espinaca en condiciones de día largo (Zeevaart y col. 1993).

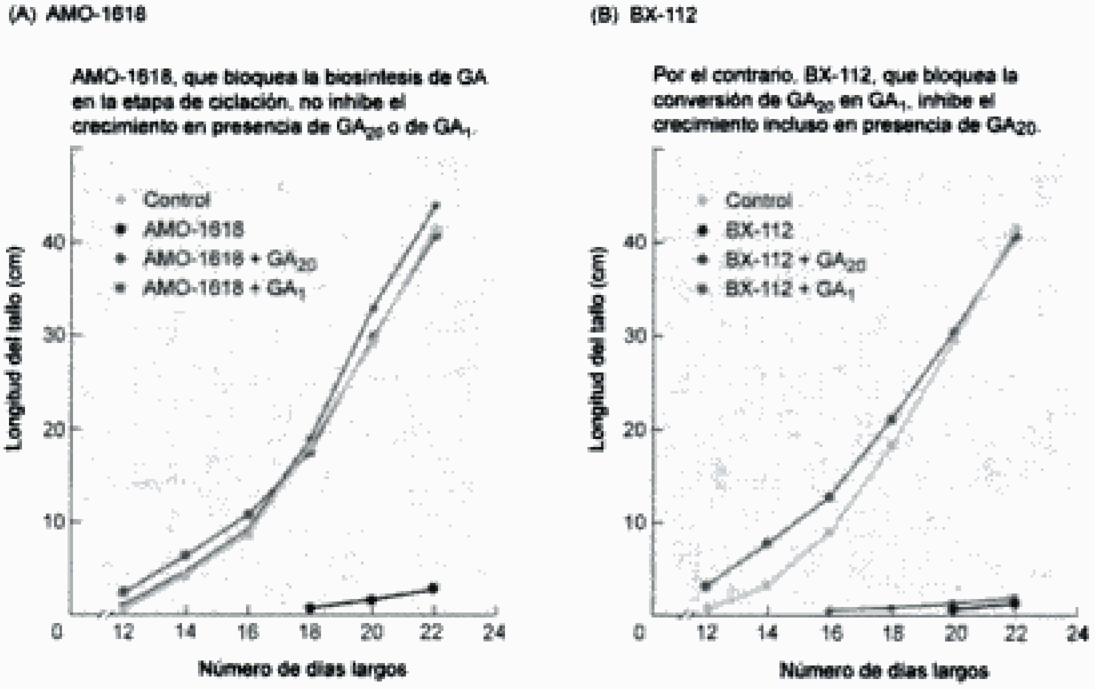


Figura 20.16 El uso de inhibidores específicos de la biosíntesis de giberelinas y la reversión de los efectos de los inhibidores sobre las diferentes GAs puede demostrar que las etapas de la biosíntesis de GA están reguladas por cambios ambientales, en este caso, el efecto de los días largos sobre el crecimiento del tallo en espinaca. El control carece de inhibidores o GA añadida. (Según Zeevaart y col. 1993).

El control del fotoperíodo en la formación del tubérculo. La formación del tubérculo en patata es otro proceso regulado por el fotoperíodo (Figura 20.17). Los tubérculos se forman sobre las patatas sólo en días cortos (aunque en muchas variedades cultivadas las necesidades de días cortos se han eliminado), y este proceso puede bloquearse por la aplicación de giberelinas. Se ha encontrado que la transcripción de GA*20ox* varía durante el ciclo de luz-oscuridad, dando lugar a niveles bajos de GA_1 en días cortos. Las plantas de patata que sobreexpresan el gen GA*20ox* retrasan la formación del tubérculo, mientras que la transformación con el gen antisentido de GA*20ox* promueve la formación del tubérculo, demostrando la importancia de la transcripción de este gen en la regulación de su formación (Carrera y col. 2000).

En general, la desetiolación, la germinación de las semillas dependiente de la luz, el control fotoperiódico del crecimiento del tallo en las plantas en roseta y la formación del tubérculo en patata son procesos mediados por fitocromos (véase el capítulo 17). Existen numerosas evidencias de que los efectos de los fitocromos son debidos, en parte, a la modulación de los niveles de giberelinas a través de cambios en la transcripción de los genes de la biosíntesis y degradación de las giberelinas.

Efectos de la temperatura. Existen semillas que necesitan temperaturas bajas para germinar (estratificación) y para la florecer (vernalización) (véase el capítulo

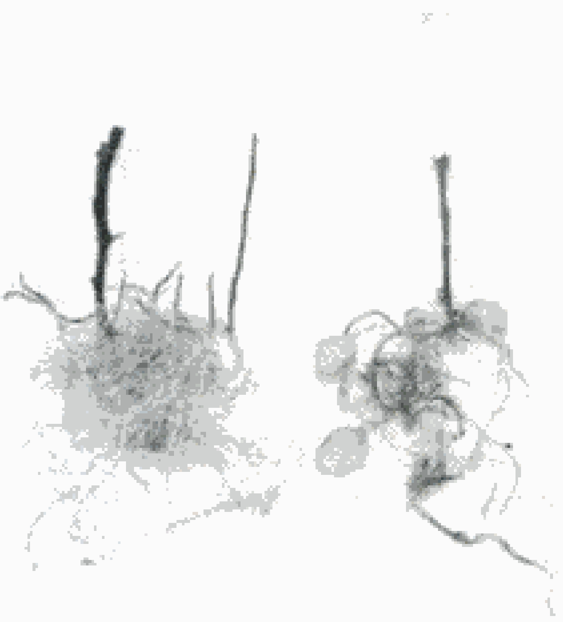


Figura 20.17 La formación de tubérculos en patata está promovida por días cortos. Se hicieron crecer plantas de patata (*Solanum tuberosum* spp. *andigena*) en condiciones de días largos o cortos. La formación de tubérculos en los días cortos está asociada a la disminución de los niveles de GA, (véase el capítulo 24). (Cortesía de S. Jackson).

24). Por ejemplo, se necesita un tratamiento prolongado con frío para la elongación del tallo y la floración de *Thlaspi arvense* (mostaza común), pudiendo las giberelinas sustituir el tratamiento con frío.

En ausencia de tratamiento con frío, el ácido *ent*-kaurénico se acumula a niveles altos en el ápice del tallo, que también es el lugar de percepción del estímulo del frío. Al poner las plantas a temperaturas altas después de un tratamiento con frío, el ácido *ent*-kaurénico es convertido a GA_9, la giberelina más activa para la estimulación de la floración. Estos resultados están en consonancia con el aumento de la actividad de la ácido ent-kaurénico hidroxilasa inducida por frío en el ápice del tallo (Hazebroek y Metzeger 1990).

Las auxinas promueven la biosíntesis de giberelinas

Aunque con frecuencia se analiza la acción de las hormonas como si actuarán individualmente, el crecimiento neto y el desarrollo de la planta son el resultado de una serie de señales combinadas. Además, una hormona puede influir sobre la bio-

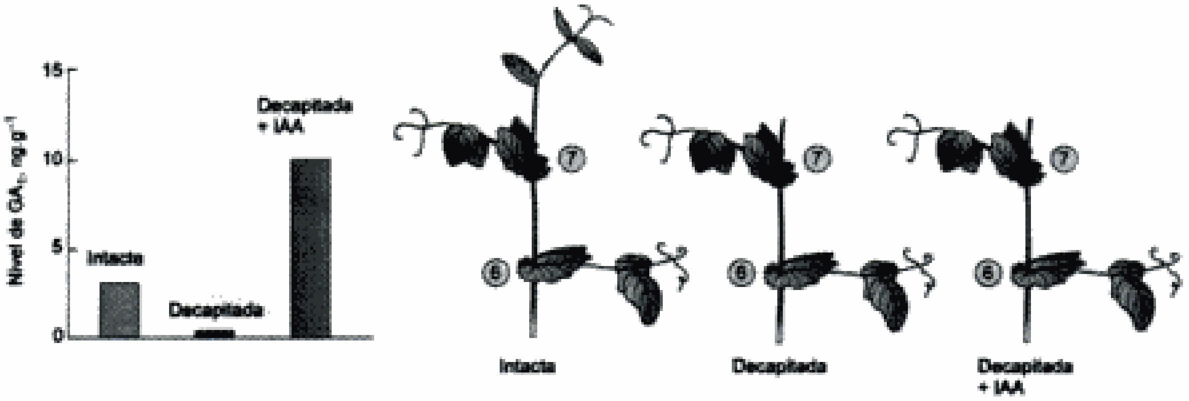


Figura 20.18 La decapitación reduce, y el IAA (auxina) reestablece, el contenido endógeno de GA, en plantas de guisante. Los números se refieren al nudo foliar. (Según Ross y col. 2000).

síntesis de otras, de modo que los efectos producidos por una hormona pueden estar mediados por los de otra.

Por ejemplo, desde hace tiempo se sabe que las auxinas inducen la biosíntesis de etileno. Hoy sabemos que las giberelinas pueden inducir la biosíntesis de auxinas y que

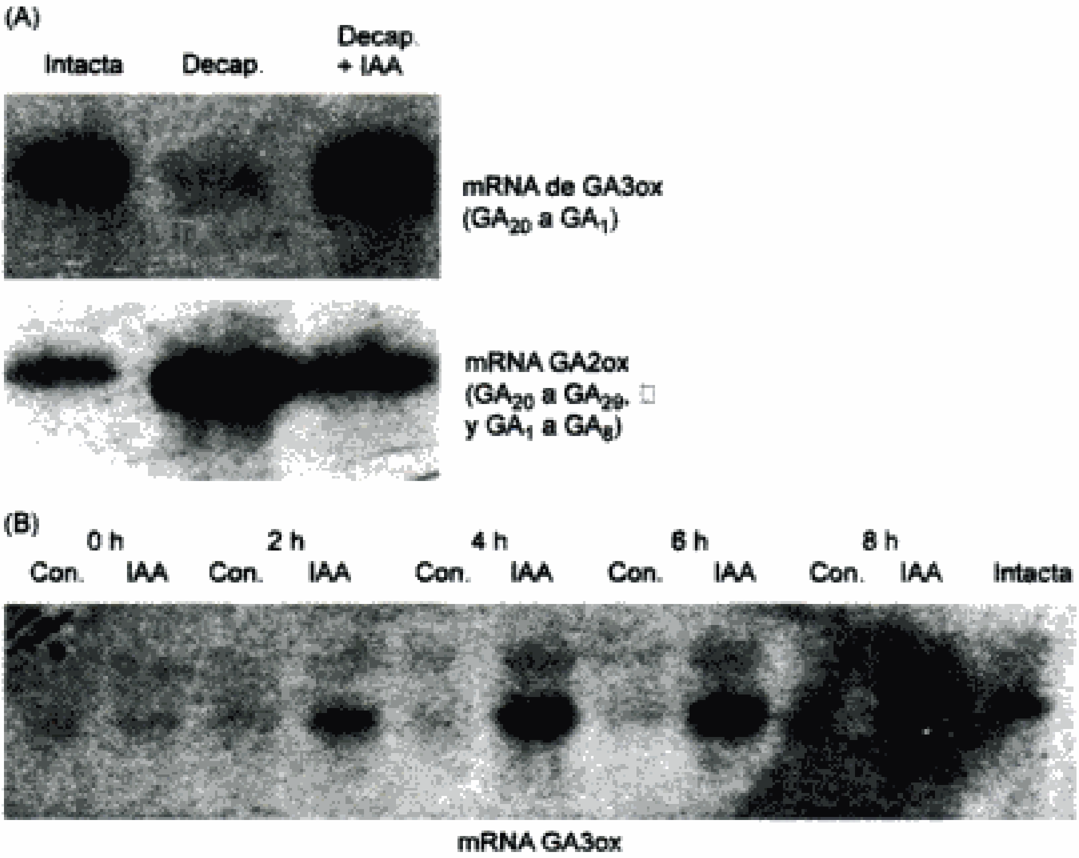

(A)
Intacta
Decap.
Decap. + IAA
mRNA de GA3ox (GA₂₀ a GA₁)
mRNA GA2ox (GA₂₀ a GA₂₉, y GA₁ a GA₈)
(B)
0 h
2 h
4 h
6 h
8 h
Con.
IAA
Con.
IAA
Con.
IAA
Con.
IAA
Con.
IAA
Intacta
mRNA GA3ox

Figura 20.19 (A) El IAA regula positivamente la transcripción de la GA 3β-hidroxilasa (que forma GA_1) y regula negativamente la GA 2-oxidasa, que destruye la GA_1. (B) El aumento de la GA 3β-hidroxilasa en respuesta al IAA puede observarse durante 2 horas. Con., control. (Según Ross y col. 2000).

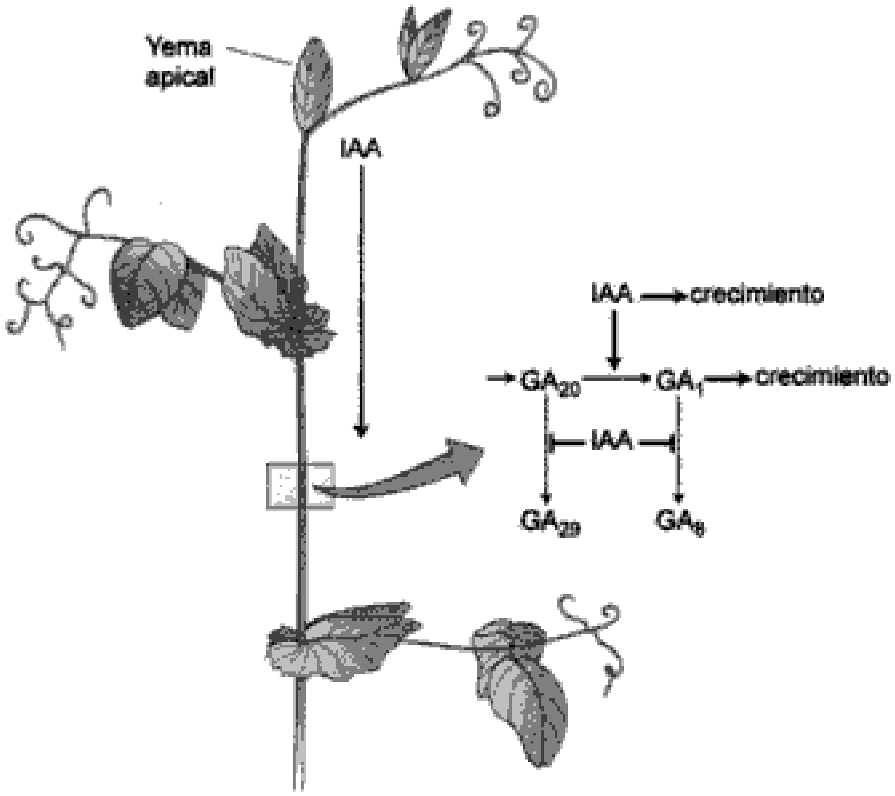

Yema apical
IAA
IAA → crecimiento
→ GA_{20} → GA_1 → crecimiento
IAA
GA_{29}
GA_8

Figura 20.20 EL IAA (de la yema apical) promueve y es necesario para la biosíntesis de GA, en los entrenudos. El IAA también inhibe la ruptura del GA_1. (Según Ross y O'Neill 2001).

las auxinas pueden inducir la biosíntesis de las giberelinas. Si se decapitan plantas de guisante, se induce el cese de la elongación del tallo y no sólo se reduce el nivel de auxinas al eliminar su fuente, sino que el nivel de GA_1 en la parte superior del tallo también cae drásticamente. Se puede demostrar que este cambio es un efecto de las auxi-

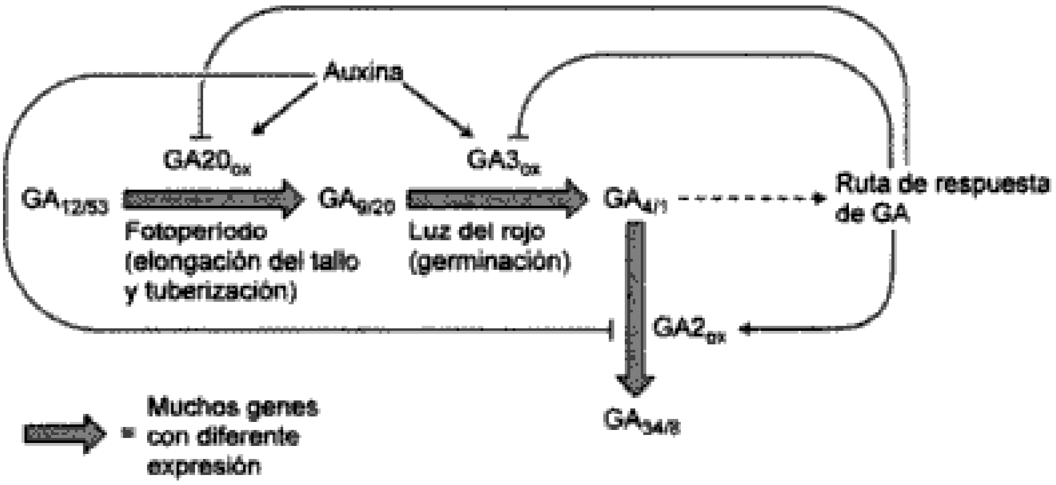

Auxina
$GA20_{ox}$
$GA3_{ox}$
$GA_{12/53}$
$GA_{9/20}$
$GA_{4/1}$
Ruta de respuesta de GA
Fotoperiodo (elongación del tallo y tuberización)
Luz del rojo (germinación)
$GA2_{ox}$
$GA_{34/8}$
= Muchos genes con diferente expresión

Figura 20.21 La ruta de la biosíntesis de la giberelina que muestra la identidad de los genes para los enzimas metabólicos y la ruta por la que se regula su transcripción por retroalimentación, el medio ambiente y las hormonas endógenas.

nas porque restaurando la yema, al aportarle auxinas, se recupera el nivel de GA_1 (Figura 20.18).

Se ha demostrado que la presencia de auxinas promueve la transcripción de *GA3ox* y reprime la transcripción de *GA2ox* (Figura 20.19). En ausencia de auxinas se produce el efecto contrario. Así, la yema apical promueve el crecimiento no sólo a través de la biosíntesis directa de auxinas, sino también a través de la biosíntesis de la giberelina GA_1 inducida por auxinas (Figura 20.20) (Ross y col. 2000; Ross y O'Neill 2001).

La figura 20.21 resume algunos de los factores que modulan el nivel de giberelina activa a través de la regulación de la transcripción de los genes de la biosíntesis o metabolismo de las giberelinas.

El enanismo puede ser modificado genéticamente

La caracterización de los genes de la biosíntesis y el metabolismo de las giberelinas (*GA20ox*, *GA3ox* y *GA2ox*) ha permitido a los investigadores, modificar la transcripción de estos genes para alterar el nivel de giberelinas de las plantas y modificar así su altura (Hedden y Phillips 2000). Normalmente el efecto deseado es inducir el

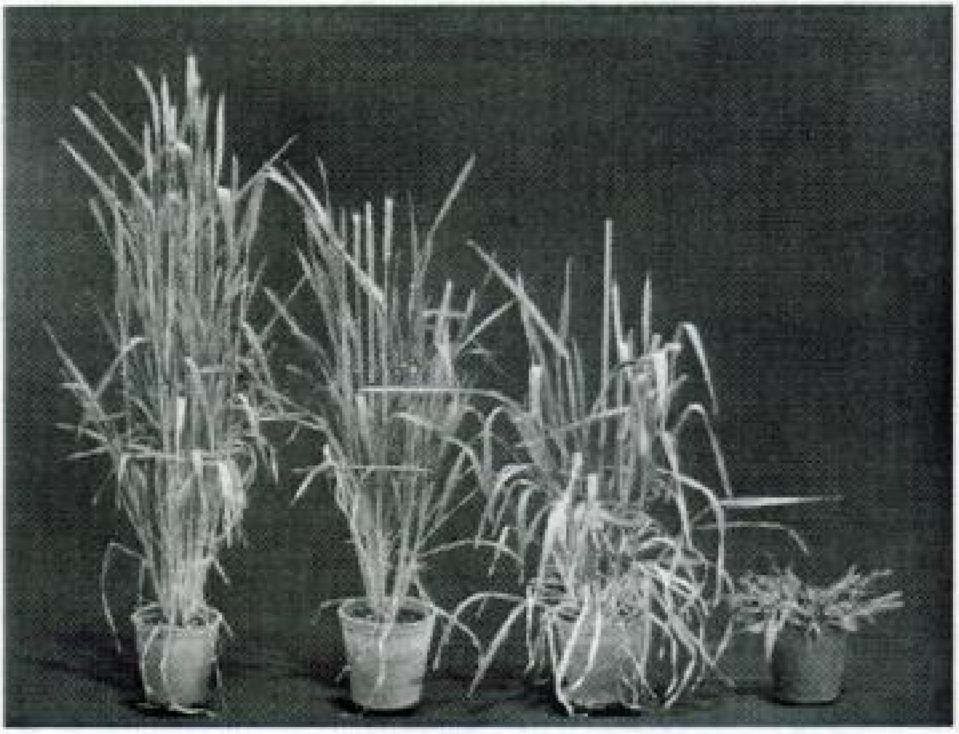


Figura 20.22 Plantas enanas de trigo modificadas genéticamente. La planta de trigo no transformada está en el extremo de la izquierda. Las tres plantas de la derecha fueron transformadas con un cDNA de la giberelina 2-oxidasa de judía bajo el control de un promotor constitutivo, por lo que la GA, endógena fue degradada. Los diferentes grados de enanismo reflejan la variedad en la sobreexpresión del gen foráneo. (Foto de Hedden y Phillips 2000, cortesía de Andy Phillips).

enanismo, porque las plantas que crecen en comunidades densas, como los cereales, suelen ser demasiado altas y tienden a doblarse hacia el suelo. Además, como las giberelinas regulan el crecimiento, se puede inhibir dicho crecimiento inhibiendo los incrementos de los niveles de giberelinas. Un ejemplo de este tipo de inhibición se produce en la remolacha azucarera.

La remolacha azucarera es una planta bienal, que forma una raíz abultada de reserva en la primera estación y una flor y una caña con semilla en la segunda. Para alargar la estación de crecimiento y obtener remolachas más grandes, algunos granjeros siembran las remolachas tan pronto como es posible en primavera, pero la siembra demasiado pronto da lugar a un crecimiento rápido en el primer año, con lo que no se forman raíces de reserva. Una reducción de la capacidad de producir giberelinas inhibe ese crecimiento rápido, permitiendo que se puedan sembrar antes las semillas y conseguir un crecimiento de remolachas más grandes.

La reducción de los niveles de GA_1 se ha alcanzado recientemente en cultivos de remolacha azucarera y trigo, bien mediante la transformación de plantas con construcciones antisentido de los genes GA20*ox* ó GA3*ox*, que codifican los enzimas de la síntesis de GA_1, o bien por la sobreexpresión del gen responsable del metabolismo de GA_1: GA2*ox*. Cualquiera de estas aproximaciones dan como resultado trigo enano (Figura 20.22) o una inhibición del crecimiento rápido en las plantas en roseta, como la remolacha.

La inhibición de la producción de semillas en tales plantas transgénicas se ha superado pulverizándolas con soluciones de giberelinas, dado que la reducción de la giberelinas se ha obtenido al bloquear los genes GA20*ox* o GA3*ox*, los enzimas de la biosíntesis de las giberelinas. Una estrategia similar se ha aplicado recientemente al césped, manteniendo el césped corto sin formación de semilla, de modo que la poda se ha eliminado virtualmente (¡un favor para los que lo mantienen!).

LOS MECANISMOS FISIOLÓGICOS DEL CRECIMIENTO INDUCIDO POR GIBERELINAS

Como hemos visto, los efectos de promoción del crecimiento inducidos por las giberelinas son más evidentes en las plantas enanas y en roseta. Cuando se tratan plantas enanas con giberelinas, se parecen a las variedades más altas de las mismas especies (véase la figura 20.1). Otro ejemplo de la acción de las giberelinas incluye la elongación de los hipocotilos y de los entrenudos de ciertas especies herbáceas.

Un caso particularmente sorprendente de la elongación del entrenudo lo encontramos en el arroz (*Oryza sativa*). En general, las plantas de arroz están adaptadas a condiciones de crecimiento parcialmente sumergidas. Para permitir a la parte superior mantenerse sobre el agua, los entrenudos se elongan a medida que aumenta el nivel del

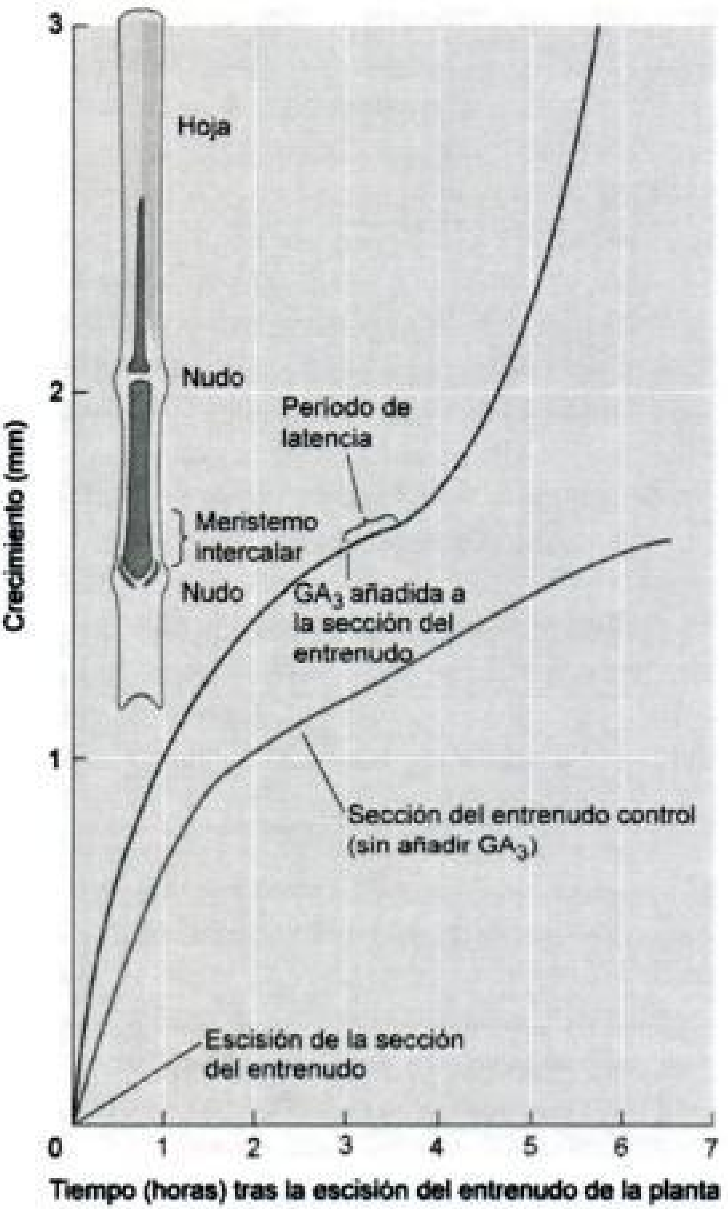


Figura 20.23 El seguimiento del crecimiento continuo del entrenudo superior del arroz en presencia o ausencia de GA_3 exógena. El entrenudo control crece a velocidad constante después del brusco inicio que se produce en las 2 horas siguientes a la escisión de la sección. La adición de GA después de 3 horas induce un brusco aumento de la velocidad después de un período de latencia de 40 minutos (curva superior). La diferencia en las velocidades iniciales de crecimiento en los dos tratamientos no es significativa aquí, pero refleja una ligera variación de los materiales experimentales. El dibujo introducido muestra la sección del entrenudo del tallo de arroz utilizado en el experimento. El meristemo intercalar justo sobre el nudo que responde a GA. (Según Sauter y Kende 1992).

agua. El arroz tiene el mayor potencial de elongación del entrenudo. En condiciones de campo se han llegado a medir velocidades de crecimiento de más de 25 cm por día.

La señal inicial es la reducción de la presión parcial de O_2 como consecuencia de encontrarse parcialmente sumergidas, lo que induce la biosíntesis del etileno (véase el capítulo 22). El etileno atrapado en los tejidos sumergidos, de hecho, reduce los niveles de ácido abscísico (véase el capítulo 23) que actúa como antagonista de las giberelinas. El resultado final es que el tejido llega a responder mucho más a las giberelinas endógenas (Kende y col. 1998). Como los inhibidores de la biosíntesis de giberelinas bloquean el efecto estimulador de la inmersión y del etileno sobre el crecimiento y las giberelinas exógenas pueden estimular el crecimiento en ausencia de inmersión, las giberelinas se consideran las hormonas directamente responsables de la estimulación del crecimiento.

El crecimiento estimulado de GA en el arroz puede ser estudiado mediante sistemas de explantos de tallo (Figura 20.23). La adición de giberelinas produce un marcado aumento de la velocidad de crecimiento después de un período de latencia de alrededor de 40 minutos. La elongación celular es la responsable del 90% del aumento de la longitud durante las 2 primeras horas del tratamiento con giberelinas.

Las giberelinas estimulan la elongación celular y la división celular

El efecto de las giberelinas aplicadas a plantas enanas es tan espectacular que en principio parece sencillo determinar el mecanismo de acción. Desafortunadamente, como hemos visto con las auxinas, no es tan sencillo debido a los numerosos aspectos del crecimiento celular vegetal que aún son desconocidos. Sin embargo, sí conocemos algunas características de la elongación del tallo inducida por giberelinas.

Las giberelinas aumentan tanto la división celular como la elongación celular debido a un aumento en el número de células y en la longitud de las células en respuesta a las aplicaciones exógenas. Por ejemplo, los entrenudos de los guisantes altos tienen más células y son más grandes que las de los guisantes enanos. Hay un

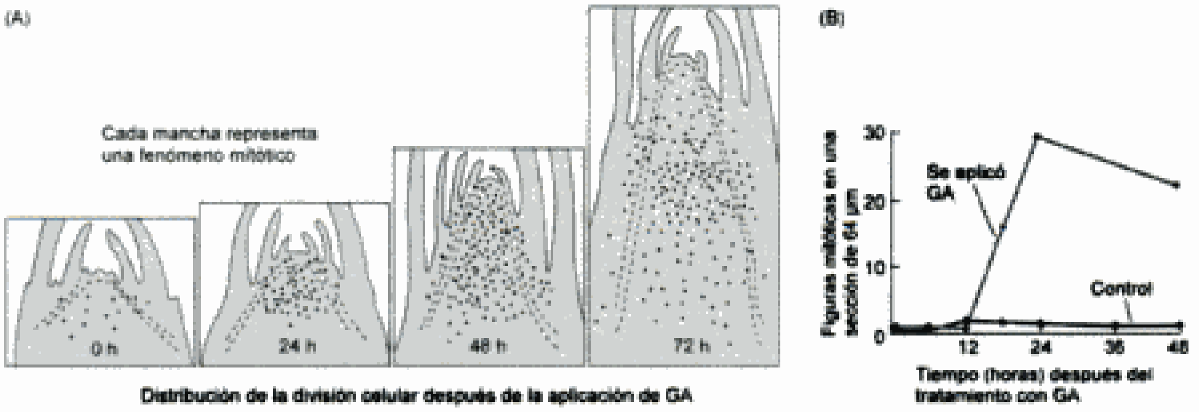


Figura 20.24 La aplicación de giberelinas a plantas en roseta induce la elongación del tallo en parte por el aumento de la división celular. (A) Las secciones longitudinales a través del eje de la *Samolus parviflorus* (rosa verde acuática) muestran un aumento de la división celular tras la aplicación de GA. (Cada punto representa una figura mitótica en una sección de 64 µm). (B) El número de figuras mitóticas con y sin GA en ápices de tallo de *Hyoscyamus Níger* (beleño negro). (Según Sachs 1965).

aumento particularmente notable de la mitosis en la región subapical del meristemo en plantas en roseta de día largo tras el tratamiento con giberelinas (Figura 20.24). La dramática estimulación de la elongación del entrenudo del arroz se debe, en parte, a un aumento de la actividad de la división celular en el meristemo intercalar. Más aún, sólo las células del meristemo intercalar, cuya división se ve aumentada por las giberelinas, muestran un aumento de la elongación celular estimulado por giberelinas.

Como la elongación celular inducido por giberelinas parece preceder a la división celular inducida por giberelinas, iniciaremos nuestra análisis con el papel de las giberelinas en la regulación de la elongación celular.

Las giberelinas aumentan la extensibilidad de la pared celular sin acidificarla

Como analizamos en el capítulo 15, la velocidad de elongación puede estar influida tanto por la extensibilidad celular de la pared como por la velocidad de incorporación de agua dirigida osmóticamente. Las giberelinas no tienen ningún efecto sobre los parámetros osmóticos, pero existen numerosas evidencias de que provocan un aumento tanto de la extensibilidad como de la tensión de relajación de las paredes de las células vivas. Un análisis de los genotipos de guisantes que difieren en el contenido o sensibilidad a giberelinas mostró que las giberelinas reducían la fuerza mínima que causaría la extensión de la pared (Behringer y otros, 1990). Así, tanto las giberelinas como las auxinas parecen ejercer efectos similares al modificar las propiedades de la pared celular.

En el caso de las auxinas, la pérdida de la pared celular parece estar mediada en parte por la acidificación de la misma (véase el capítulo 19). Sin embargo, éste no parece ser el mecanismo de acción de las giberelinas. En ningún caso se ha podido demostrar un aumento de la extrusión de protones inducido por giberelinas. Por otro lado, las giberelinas no están nunca presentes en los tejidos en ausencia total de auxinas y los efectos de las giberelinas sobre el crecimiento pueden depender de la acidificación de la pared inducida por auxinas.

El período de latencia típico antes de que se inicie el crecimiento inducido por giberelinas es mayor que el de las auxinas; como comentamos antes, en el arroz es de unos 40 minutos (véase la figura 20.23) y en guisantes de 2 a 3 horas (Yang y col. 1996). Estos tiempos de latencia más largos indican un mecanismo de promoción del crecimiento diferente del de las auxinas. De acuerdo con la existencia de un mecanismo de degradación de la pared específico para giberelinas, las respuestas de crecimiento al aplicar giberelinas y auxinas son aditivas.

Se han hecho varias sugerencias sobre el mecanismo por el cual las giberelinas estimulan la elongación del tallo, y todas tienen alguna evidencia experimental, pero ninguna de ellas ha proporcionado una respuesta bien definida. Por ejemplo, hay evidencias de que el enzima xiloglucano endotransglicosilasa (XET) está implicada en el crecimiento de la pared inducida por giberelinas. La función de XET podría ser facilitar la penetración de las expansinas en la pared celular. Recordemos que las expansinas son proteínas celulares que provocan la pérdida de la pared en condiciones ácidas al debilitar los puentes de hidrógeno entre los polisacáridos (véase el capítulo 15). Tanto las expansinas como XET pueden ser necesarias para la elongación celular estimulada por giberelinas (véase el **tema web 20.3**).

Las giberelinas regulan la transcripción de las quinasas del ciclo celular en los meristemos intercalares

Como comentamos anteriormente, la velocidad de crecimiento de los entrenudos de arroz aumenta dramáticamente en respuesta a la inmersión y, en parte, esta respuesta es debida al aumento de la división celular en el meristemo intercalar. Para es-

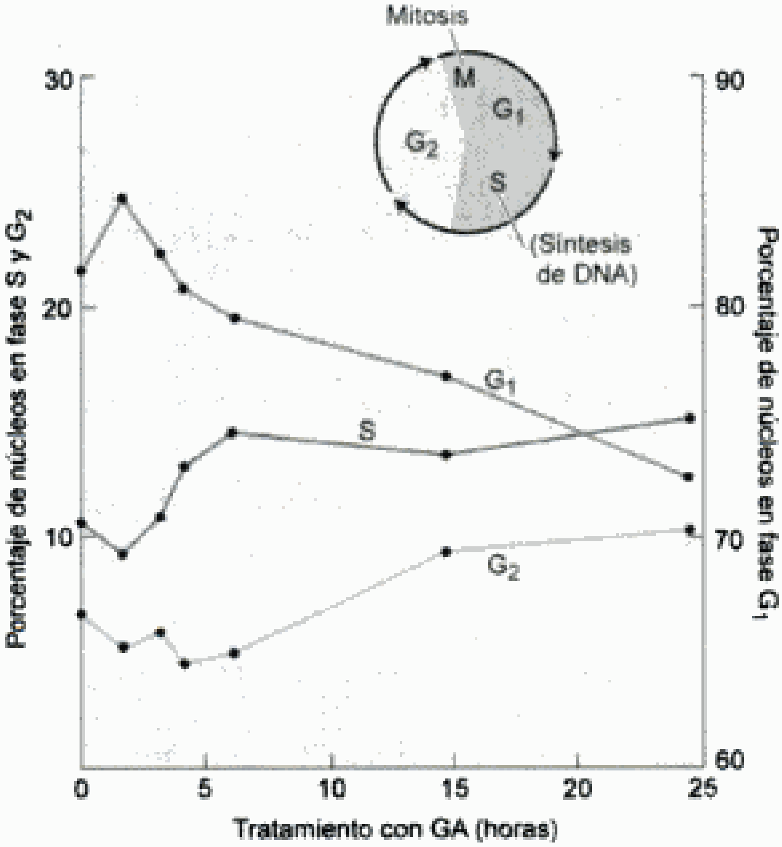


Figura 20.25 Cambios en el estado del ciclo celular de núcleos de meristemos intercalares de entrenudos de arroz tratados con GA_3. Obsérvese que la escala de núcleos en G_1 está a la derecha de la gráfica. (Según Sauter y Kende 1992). (*Linum usitatissimum*), mostrando los meristemos apicales. (Fotos © J. Robert Waaland/Biological Photos Service.)

tudiar el efecto de las giberelinas sobre el ciclo celular, los investigadores aislaron los núcleos de los meristemos intercalares y cuantificaron la cantidad de DNA por núcleo (Figura 20.25) (Sauter y Kende 1992).

En plantas inducidas por inmersión, las giberelinas activan la división celular primero en la transición de la fase G_1 a S, dando lugar a un aumento de la actividad mitótica. Para ello, las giberelinas inducen la expresión de los genes de varias **ciclinas dependientes de quinasa (CDKs)**, que están implicadas en la regulación del ciclo celular (véase el capítulo 1). En el meristemo intercalar, las giberelinas inducen la transcripción de estos genes (primero aquellos que regulan la transición desde la fase G_1 a S, y luego aquellos que regulan la transición de la fase G_2 a M). El resultado es un aumento inducido por giberelinas en la progresión desde la fase G_1 a S a través del proceso de mitosis y la división celular (véase el **tema web 20.4**) (Fabian y col. 2000).

Los mutantes que no responden a giberelinas tienen defectos en la transducción de la señal

Los mutantes que tienen dañada su respuesta a giberelinas y tienen alterado un único gen proporcionan una herramienta muy valiosa para la identificación de genes que codifican posibles receptores de giberelinas o componentes de sus rutas de transducción de señal. En la búsqueda de dichos mutantes, se han seleccionado tres tipos que tienen mutaciones que afectan a la altura de la planta:

1. Enanos insensibles a giberelinas
2. Mutantes deficientes en giberelinas en los que la deficiencia se puede superar por una segunda mutación «supresora», por lo que las plantas casi parecen normales.
3. Mutantes con una respuesta constitutiva a giberelinas (mutantes «slender», del inglés slender, espigados).

Los tres tipos de mutantes de respuesta a giberelinas se han generado en *Arabidopsis*, pero se han encontrado mutaciones equivalentes en otras especies; de hecho, algunas se han utilizadas en la agricultura durante años.

Los tres tipos de selecciones de nutaciones han permitido identificar, en algunos casos, genes que codifican los mismos componentes de las rutas de transducción de señal, incluso aunque los fenotipos seleccionados sean completamente diferentes. Esto es posible porque mutaciones en diferentes puntos de la misma proteína pueden dar lugar a fenotipos muy diferentes, dependiendo de si la mutación se encuentra en un dominio regulador o en un dominio de actividad o funcional. En las secciones siguientes se describen algunos ejemplos de los diferentes fenotipos que pueden surgir de mutaciones en distintas partes de la misma proteína.

Dominio funcional (represión). Actualmente, los principales componentes de la ruta de transducción de señal que se han identificado son *represores de la señalización de las giberelinas*; es decir, reprimen el crecimiento en altura inducido por giberelinas y hacen que la planta sea enana. Las proteínas represoras dejan de ser activas con las giberelinas, por lo que es posible que reviertan al tipo normal y crezca. La pérdida de función resultante de una mutación en un dominio funcional del *regulador negativo* da lugar a un mutante que parece haber sido tratado con giberelinas; es decir, tiene un fenotipo alto. Así, una mutación de pérdida de función de un regulador negativo es como si fuera una doble negación en gramática: se traduce como positivo.

Debido a que los efectos de pérdida de función son pleiotrópicos, es decir, afectan a procesos de desarrollo diferentes de la elongación del tallo, las etapas de la ruta implicadas en la respuesta al crecimiento son probablemente comunes a todas las respuestas inducidas por giberelinas.

Dominio regulador. Si una mutación en un gen regulador negativo produce un cambio en el *dominio regulador* (por ejemplo, la parte de la proteína que recibe una señal del receptor de las giberelinas que indica la presencia de giberelinas), la proteína es incapaz de recibir la señal y se retrasa su actividad de represión del crecimiento. El fenotipo de dicho mutante será el de una planta enana insensible a giberelinas. Así, diferentes mutaciones en el mismo gen pueden dar fenotipos opuestos (altas frente a enanas), dependiendo de si la mutación se localiza en el dominio represor o en el dominio regulador.

Las mutaciones en el dominio regulador que confieren la pérdida de la sensibilidad a giberelinas dan lugar a la síntesis constitutiva de la forma activa del represor que no puede ser revertida por giberelinas. Cuanta menor cantidad de mutante represor presente en la célula, más enana será la planta. Por tanto, tales mutaciones en el dominio regulador son semidominantes.

Por el contrario, las mutaciones en el dominio de represión inactivan al regulador negativo (por ejemplo, suprimen la actividad de alelos), por lo que no tiene lugar la represión del crecimiento; tales mutaciones son recesivas porque en un heterocigoto la mitad de las proteínas todavía son capaces de reprimir el crecimiento en ausencia de giberelinas. Todos estos reguladores negativos han de ser no funcionales para que se produzca el crecimiento de la planta sin giberelinas.

Con todo esto como trasfondo, analizaremos los ejemplos específicos de mutaciones en los genes que codifican las proteínas de la ruta de transducción de señal de giberelinas.

Diferentes búsquedas genéticas han identificado los represores relacionados GAI y RGA

Se han aislado varios mutantes enanos insensibles a giberelinas en varias especies. El primero en ser aislado en *Arabidopsis* fue el mutante *gai-1* (Figura 20.26) (Sun 2000). Los mutantes *gai-1* se parecen a los mutantes deficientes en giberelinas, excepto porque no responden a giberelinas exógenas.

Otro mutante se obtuvo en la búsqueda de una segunda mutación de un mutante deficiente en giberelinas en *Arabidopsis* que reestableciera, al menos parcialmente, el crecimiento del tipo silvestre.

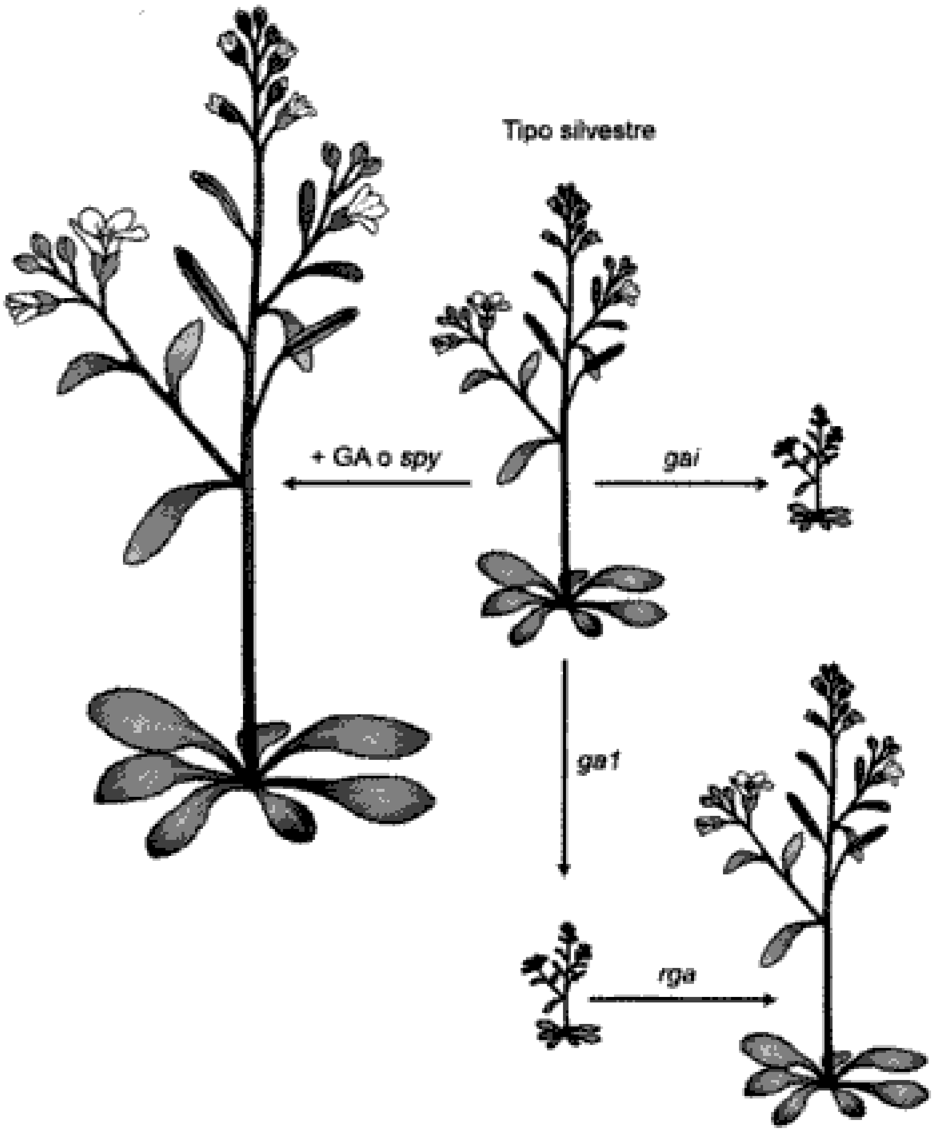


Figura 20.26 Los efectos en el fenotipo de *Arabidopsis* del tratamiento con giberelinas y las mutaciones en tres genes diferentes (*gai*, *ga1* y *rga*).

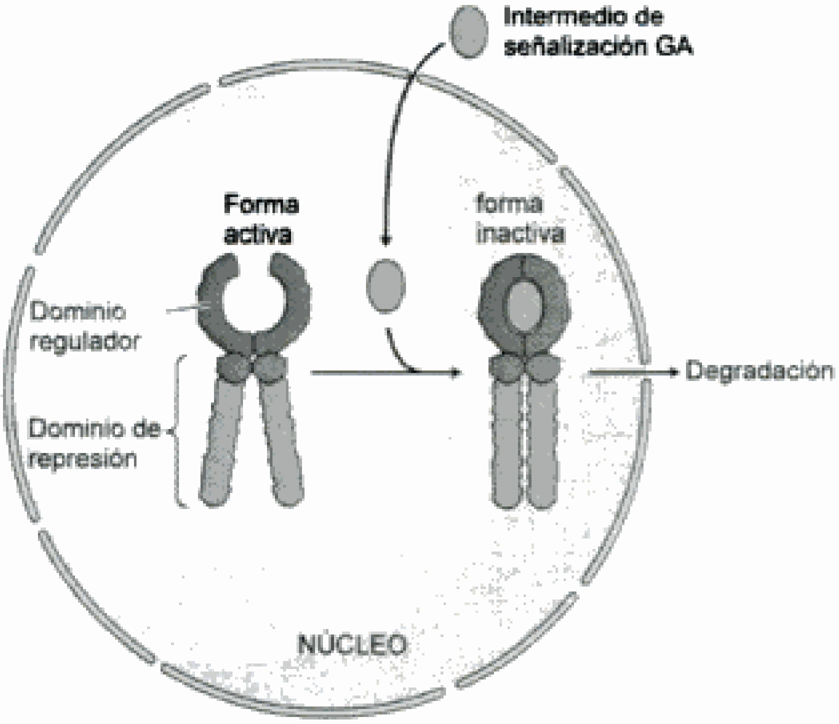


Figura 20.27 Los dos dominios funcionales de *GAI* y *RGA*: el dominio regulador y el dominio de represión. El dominio de represión es activo en ausencia de giberelina. Un intermediario de señalización inducido por giberelina se une al dominio regulador, marcándolo para su destrucción. Obsérvese que la proteína forma homodímeros.

El mutante original deficiente en giberelinas fue *ga1-3* y el segundo mutante que parcialmente «revierte» el fenotipo (es decir, reestablece el crecimiento normal) se llamó *rga* (represor de *ga1-3*).[4] La mutación *rga* es una mutación recesiva que, cuando está presente en doble copia, da lugar a una planta de altura intermedia (véase la figura 20.26).

A pesar de los fenotipos hallados en los mutantes, los genes de tipo silvestre *GAI* y *RGA* están estrechamente relacionados y tienen secuencias muy similares (82%). La mutación *gai-1* es semidominante, como lo son otras mutaciones enanas insensibles a giberelinas en otras especies.

Los análisis genéticos han indicado que tanto las proteínas *GAI* como las *RGA* actúan normalmente como represoras de las respuestas a giberelinas. Las giberelinas actúan indirectamente a través de un intermediario en la señalización no identificado, que se cree que se une a los dominios reguladores de las proteínas *GAI* y *RGA* (Figura 20.27). El represor no es capaz de inhibir el crecimiento y la planta que resulta es alta.

La razón de que *gai-1* sea enana, mientras que *rga* es alta, es que las mutaciones se dan en diferentes partes de la proteína. Mientras que la mutación *gai-1* (que su-

---

[4] Llévese cuidado en no confundir *gai* (insensible a giberelinas) y *ga1* (deficiente en giberelina #1), que pueden confundirse en la nomenclatura.

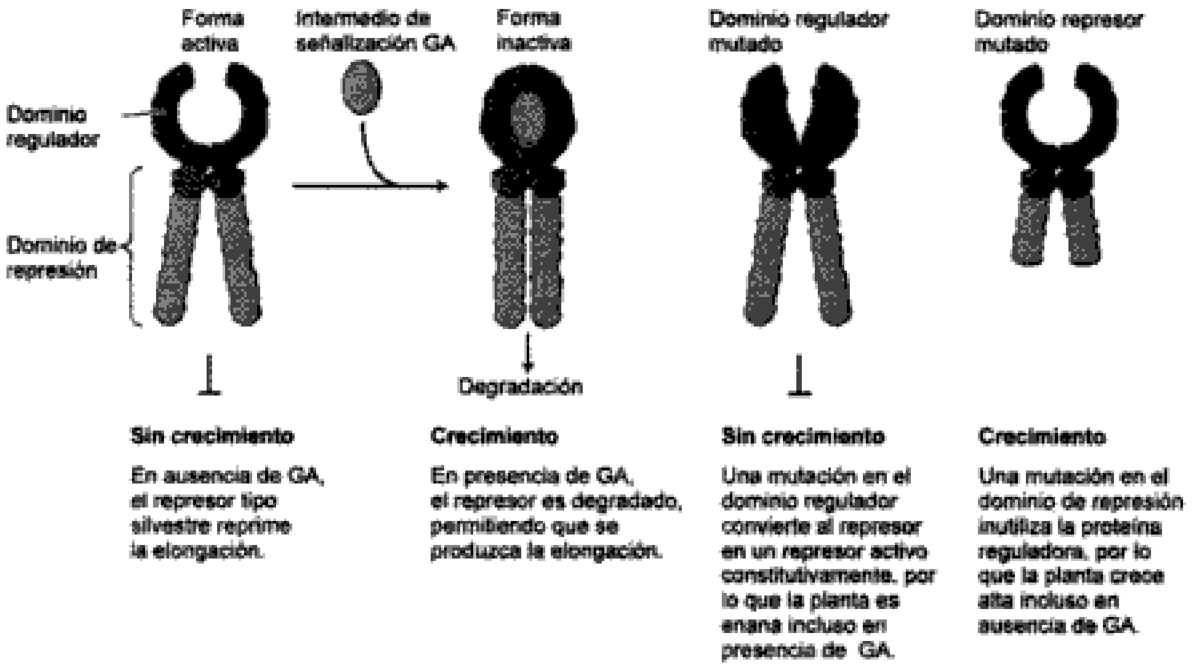

Forma activa
Intermedio de señalización GA
Forma inactiva
Dominio regulador mutado
Dominio represor mutado
Dominio regulador
Dominio de represión
Degradación
Sin crecimiento
En ausencia de GA, el represor tipo silvestre reprime la elongación.
Crecimiento
En presencia de GA, el represor es degradado, permitiendo que se produzca la elongación.
Sin crecimiento
Una mutación en el dominio regulador convierte al represor en un represor activo constitutivamente, por lo que la planta es enana incluso en presencia de GA.
Crecimiento
Una mutación en el dominio de represión inutiliza la proteína reguladora, por lo que la planta crece alta incluso en ausencia de GA.

Figura 20.28 Diferentes mutaciones en los represores *GAI* y *RGA* pueden producir diferentes efectos sobre el crecimiento.

prime la sensibilidad de la giberelina al represor) está en el dominio regulador, la mutación *rga* (que evita la acción del represor en el bloqueo del crecimiento) está localizada en el dominio de represión, ilustrado en la figura 20.28.

Se ha demostrado que el gen mutado *gai-1* codifica una proteína mutante con una delección de 17 aminoácidos, que corresponden al dominio regulador del represor (Dill y col. 2001). Una mutación similar en el dominio receptor del gen *RGA* también produce una planta enana insensible a las giberelinas, demostrando que las dos proteínas relacionadas tienen funciones solapadas. A causa de esta delección en el mutante *gai-1*, la acción del represor no puede ser sustituida por las giberelinas, y el crecimiento está inhibido constitutivamente.

Las giberelinas provocan la degradación de los represores transcripcionales RGA

Los genes *GAI* y *RGA* silvestre en *Arabidopsis* son miembros de una gran familia génica que codifica represores transcripcionales que tienen regiones altamente conservadas con señales de localización nuclear. Para demostrar la localización y naturaleza del represor del producto de RGA, se fusionó el promotor de *RGA* al gen de una proteína fluorescente verde cuyo producto puede visualizarse con el microscopio. El color verde podía verse en los núcleos celulares.

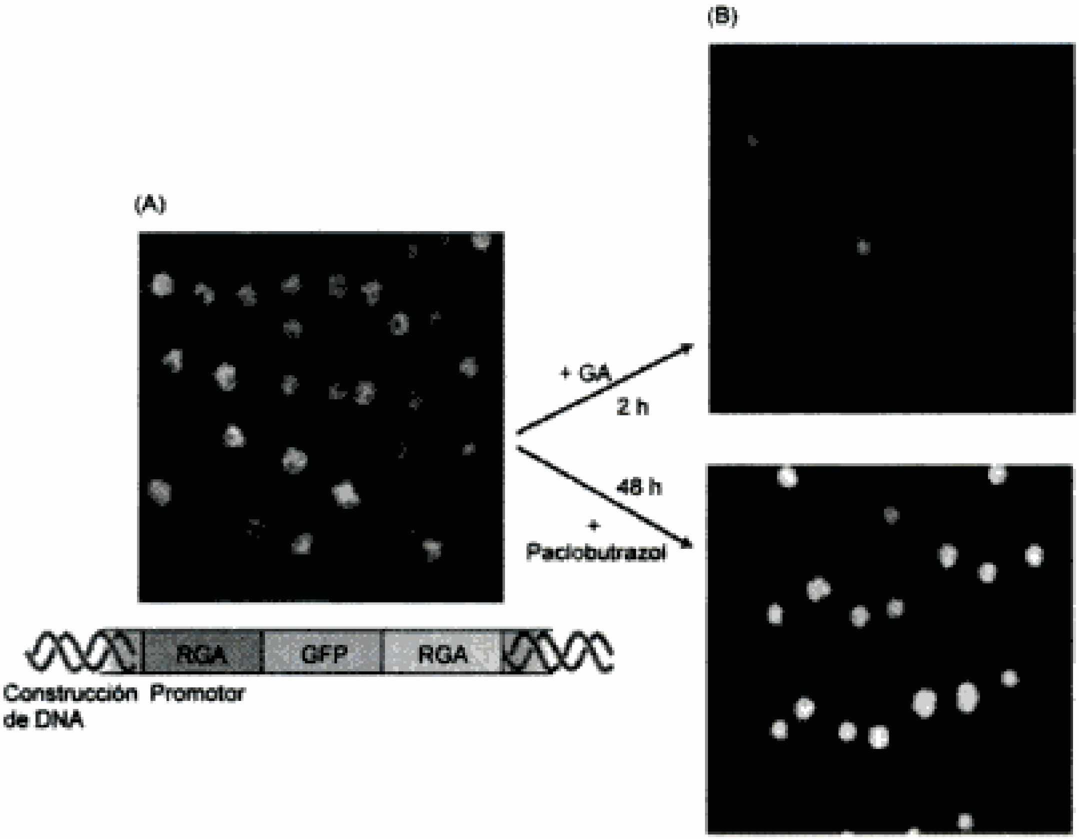


Figura 20.29 La proteína RGA se encuentra en el núcleo de las células, de acuerdo con su identidad como factor de transcripción y su nivel se ve afectado por el nivel de GA. (A) se transformaron células vegetales con el gen RGA fusionado al gen de la proteína fluorescente verde (GFP), permitiendo la detección de RGA en el núcleo por microscopía de fluorescencia. (B) El efecto de GA sobre RGA. Un pretratamiento de 2 horas con giberelinas provoca la pérdida de RGA en la célula (superior). Cuando se inhibe la biosíntesis de la giberelina en presencia del paclobutrazol, el contenido de RGA en el núcleo aumenta (inferior). (Según Silverstone y col. 2001)

Cuando las plantas se trataron con giberelinas, no se apreció ningún color verde, demostrando que la proteína RGA no estaba presente tras el tratamiento con giberelinas. Sin embargo, cuando el contenido en giberelinas se vio notablemente reducido al tratar con el paclobutrazol, un inhibidor de la biosíntesis de giberelinas, los núcleos adquirieron una intensa fluorescencia verde, demostrando tanto la presencia como la localización nuclear de la proteína RGA únicamente en ausencia o con niveles bajos de giberelinas (Figura 20.29) (Silverstone y col. 2001).

Tanto GAI como RGA tienen regiones conservadas en la zona amino terminal de la proteína conocida como DELLA, de acuerdo con el código de letras de los aminoácidos en la secuencia. Esta región está implicada en la respuesta a giberelinas, debido a que es la localización de la mutación en *gai-1* que hace que no responda a giberelinas. Por ello, la proteína RGA es sintetizada continuamente; en presencia de giberelinas, esta proteína es marcada para ser destruida y la región DELLA es requerida para la respuesta (Dill y col. 2001).

Es probable que las giberelinas también estén implicadas en el recambio de GAI. RGA y GAI tienen funciones particularmente redundantes en el mantenimiento del estado reprimido de la ruta de señalización de las giberelinas. Sin embargo, RGA parece participar con una función más dominante que *GAI* debido a que un mutante deficiente en giberelinas, una segunda mutación en el dominio de represión de *gai* (*gai-t6*) no restablece el crecimiento, mientras que una mutación comparable lo hace en la mutación *rga*. Por otro lado, la existencia de mutaciones en el dominio de represión de todos estos genes permite la expresión completa de muchas características inducidas por GA, incluidas la altura de la planta en ausencia de giberelinas (véase la figura 20.26) (Dill y Sun 2001; King y col. 2001).

Se han identificado los represores DELLA en plantas cultivadas

En varias plantas cultivadas se han encontrado represores funcionales DELLA que tienen mutaciones que provocan enanismo, análogas a las *gai-1*, en los genes que codifican estas proteínas. Las más destacadas son las mutaciones *rht* (del inglés *r*oot *h*eigh*t*, altura reducida) de trigo que se han utilizado en agricultura durante 30 años. Estos alelos codifican moduladores de la respuesta a giberelinas que carecen de respuesta a giberelinas, produciendo enanismo (Peng y col. 1999; Silverstone y Sun 2000).

Las plantas de cereales enanas como éstas fueron muy importantes como fundamento de la revolución verde que permitió aumentar enormemente el rendimiento de los cultivos. Los cereales normales crecen demasiado altos cuando se encuentran en el campo, especialmente con altos niveles de fertilizantes. El resultado es que estas plantas se curvan y disminuye el rendimiento. El uso de estas variedades enanas que resisten a la curvatura permite conseguir cosechas mayores.

El regulador negativo SPINDLY es un enzima que altera la actividad proteica

Los mutantes «slender» se parecen a las plantas silvestres que han sido tratadas repetidamente con giberelinas. Muestran entrenudos alargados, crecimiento de frutos partenocárpicos (en dicotiledóneas) (sin semillas) y escasa producción de polen. Los mutantes «slender» son raros comparados con los mutantes enanos.

Una posible explicación del fenotipo «slender» podría ser simplemente que los mutantes tienen niveles de giberelinas endógenas superiores a los normales. Por ejemplo, en la mutación *sln* de guisante, una etapa de desactivación de las giberelinas se halla bloqueada en la semilla. En consecuencia, la semilla madura, que en el tipo silvestre contiene poco o nada de GA, tiene niveles anormalmente altos de GA_{20}. La

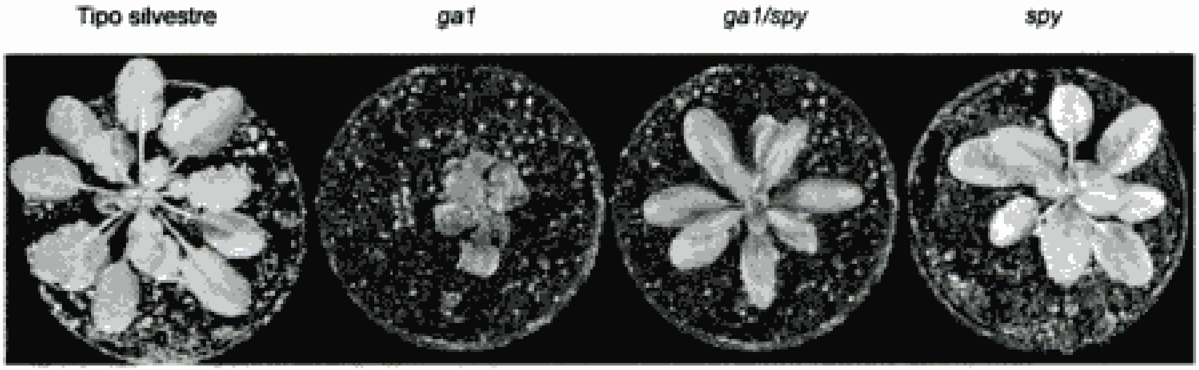


Figura 20.30 La mutación *spy* en *Arabidopsis* provoca la negación de un represor del crecimiento, de modo que las plantas parece que han sido tratadas con giberelinas. De izquierda a derecha: tipo silvestre, *ga1* (deficiente en GA), el doble mutante *ga1/spy* y *spy*. (Cortesía de N. Olszewski).

GA_{20} de la semilla es entonces incorporada a la plántula germinante y convertida en GA_1, bioactiva, dando lugar al fenotipo «slender». Sin embargo, una vez que la plántula agota el GA_{20} de la semilla, su fenotipo vuelve a ser normal (Reid y Howell 1995).

Por otro lado, si el fenotipo «slender» *no* es debido a una superproducción de la giberelina endógena, se considera que el mutante es **un mutante de respuesta constitutiva** (Sun 2000). El mejor caracterizado de dichos mutantes son los mutantes superaltos: *la* cry^s en guisante (mutaciones representantes de dos locus, *La* y Cry^s) (véase la figura 20.10); *procera* (*pro*) en tomate; slender (*sln*) en cebada; y *spindly* (*spy*, del inglés *sp*indl*y*, largo y delgado) en *Arabidopsis* (Figura 20.30). Todas estas mutaciones son recesivas y parecen ser mutaciones de pérdida de función en reguladores negativos de la ruta de respuesta a giberelinas, como en el caso de los reguladores DELLA.

El gen *SPINDLY* (*SPY*) en *Arabidopsis* y otros genes relacionados en otras especies son similares en secuencia a los genes que codifican las glucosalina transferasas en animales (Thornton y col. 1999). Estos enzimas modifican las proteínas diana a través de la glucosilación de residuos de serina o treonina. La glucosilación puede modificar la actividad proteica bien directa o bien indirectamente, al bloquear los sitios de fosforilación de las proteína quinasas. Todavía no se ha identificado la proteína diana de las proteínas «spindly».

SPY actúa antes que *GAI* y *RGA* en la cadena de transducción de señal de las giberelinas

A partir de los resultados comentados en las secciones anteriores y de otros estudios de la expresión de *SPY*, *GAI* y *RGA* (Sun 2000; Dill y col. 2001), podemos esbozar los elementos que participan en la cadena de transducción de señal de las giberelinas (Figuras 20.31 y 20.32):

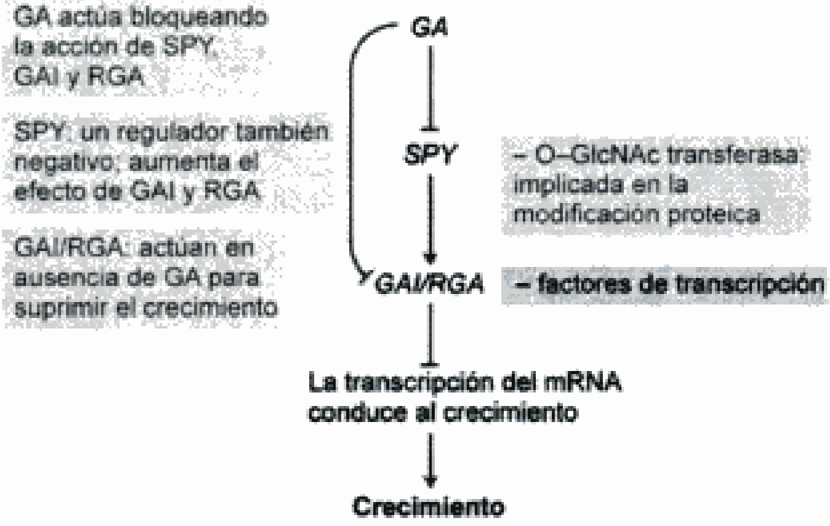
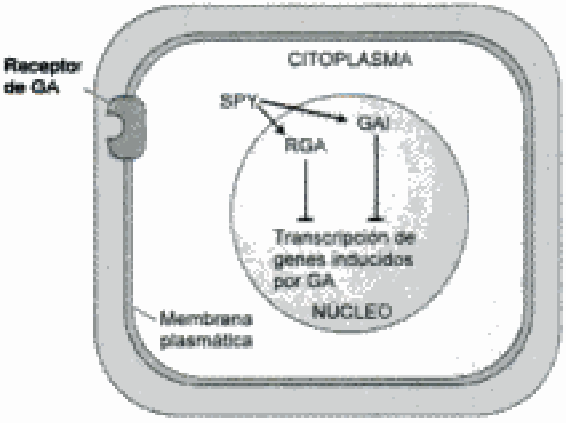

GA actúa bloqueando la acción de SPY, GAI y RGA
SPY: un regulador también negativo; aumenta el efecto de GAI y RGA
GAI/RGA: actúan en ausencia de GA para suprimir el crecimiento
GA
SPY
– O–GlcNAc transferasa: implicada en la modificación proteica
GAI/RGA
– factores de transcripción
La transcripción del mRNA conduce al crecimiento
Crecimiento

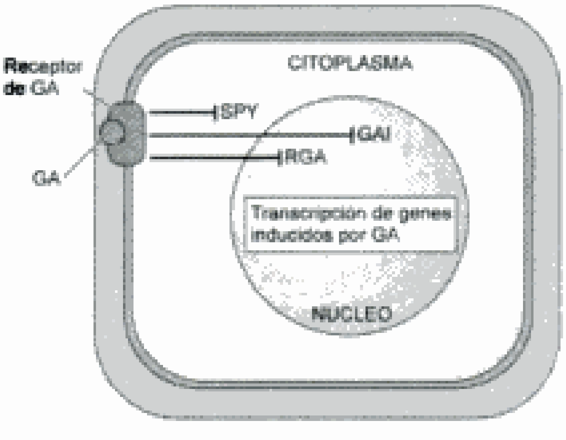
Figura 20.31 Interacciones entre la giberelina y los genes *SPY*, *GAI* y *RGA* en la regulación de la elongación del tallo.

Célula vegetal deficiente en GA: Sin crecimiento


Receptor de GA
CITOPLASMA
SPY
GAI
RGA
Transcripción de genes inducidos por GA
NÚCLEO
Membrana plasmática

En una célula deficiente en GA en un mutante deficiente en la biosíntesis de GA, o en una célula tipo silvestre sin la señal GA, el receptor transmembrana de GA está inactivo en presencia de la señal GA. En esta situación, SPY es una O-GlcNAc transferasa activa que cataliza la adición de un residuo señal GlcNAc (a partir de la UDP-GlcNAc) a través de un enlace O a residuos específicos de serina y/o treonina de proteínas diana, posiblemente RGA y GAI. La función de las proteínas RGA y GAI cuando están activas es actuar como represores de la transcripción e inhibir, directa o indirectamente, la expresión de los genes inducidos por GA.

Célula vegetal con GA: Crecimiento


Receptor de GA
GA
CITOPLASMA
SPY
GAI
RGA
Transcripción de genes inducidos por GA
NÚCLEO

En presencia de GA, el receptor de GA está activado por la unión de la GA bioactiva. La señal GA inhibe los represores RGA y GAI bien directamente o por desactivación de SPY. En ausencia de represión por RGA yGAI, los genes inducidos por GA se transcriben.

Figura 20.32 Funciones propuestas de las proteínas SPY, GAI y RGA activas en la ruta de señalización de GA en una célula vegetal.

Dos o más reguladores codificados por *GAI* y *RGA* que actúan como inhibidores de la transcripción de los genes que, directa o indirectamente, promueven el crecimiento.

- *SPY* parece ser el intermediario de la transducción de la señal que actúa antes que *GAI* y *RGA* que, por sí mismo, inicia o potencia la transcripción o acción de *GAI* y *RGA*, o de otro regulador negativo.
- En presencia de giberelinas, SPY, GAI y RGA son anuladas o suprimidas.
- La proteína RGA es degradada y probablemente GAI es destruida de modo similar.

Las investigaciones actuales están dirigidas a determinar si las giberelinas anulan GAI y RGA a través de SPY o independientemente, o si ocurren ambas cosas. Sin embargo, la idea básica en este caso y en el caso de otras hormonas vegetales, como el etileno (véase el capítulo 22) y el fotorreceptor del fitocromo (véase el capítulo 17), es que el defecto en el programa de desarrollo es para que tenga lugar el crecimiento de tipo inducido, mientras que se evita la ruta por defecto por la presencia de varios reguladores negativos. Más que promover un efecto de forma directa, la presencia de una señal de desarrollo, en este caso las giberelinas, anula el represor del crecimiento, permitiendo la condición original.

LA TRANSDUCCIÓN DE LA SEÑAL EN GIBERELINAS: LA CAPA DE ALEURONA DE LOS CEREALES

Los análisis genéticos del crecimiento regulado por giberelinas, tales como los estudios que hemos descrito en la sección anterior, han permitido identificar algunos de los genes y sus productos, pero no las rutas bioquímicas implicadas en la transducción de la señal de giberelinas. Los mecanismos bioquímicos y moleculares, que probablemente son comunes a todas las respuestas a giberelinas, han sido estudiados con detalle en relación con la síntesis y secreción de la α-amilasa en la capa de aleurona de los cereales (Jacobsen y col. 1995).

En esta sección describiremos cómo tales estudios han aportado luz a la localización del receptor de giberelinas, la regulación transcripcional de los genes de la α-amilasa y otras proteínas, y las posibles rutas de transducción de señal implicadas en el control de la síntesis y secreción de la α-amilasa por las giberelinas.

Las giberelinas estimulan en el embrión la producción de α-amilasa por las capas aleurona

Los granos de cereal (cariópsides) pueden dividirse en tres partes: el embrión diploide, el endospermo triploide y la fusión testa-pericarpo (cobertura de la semilla-

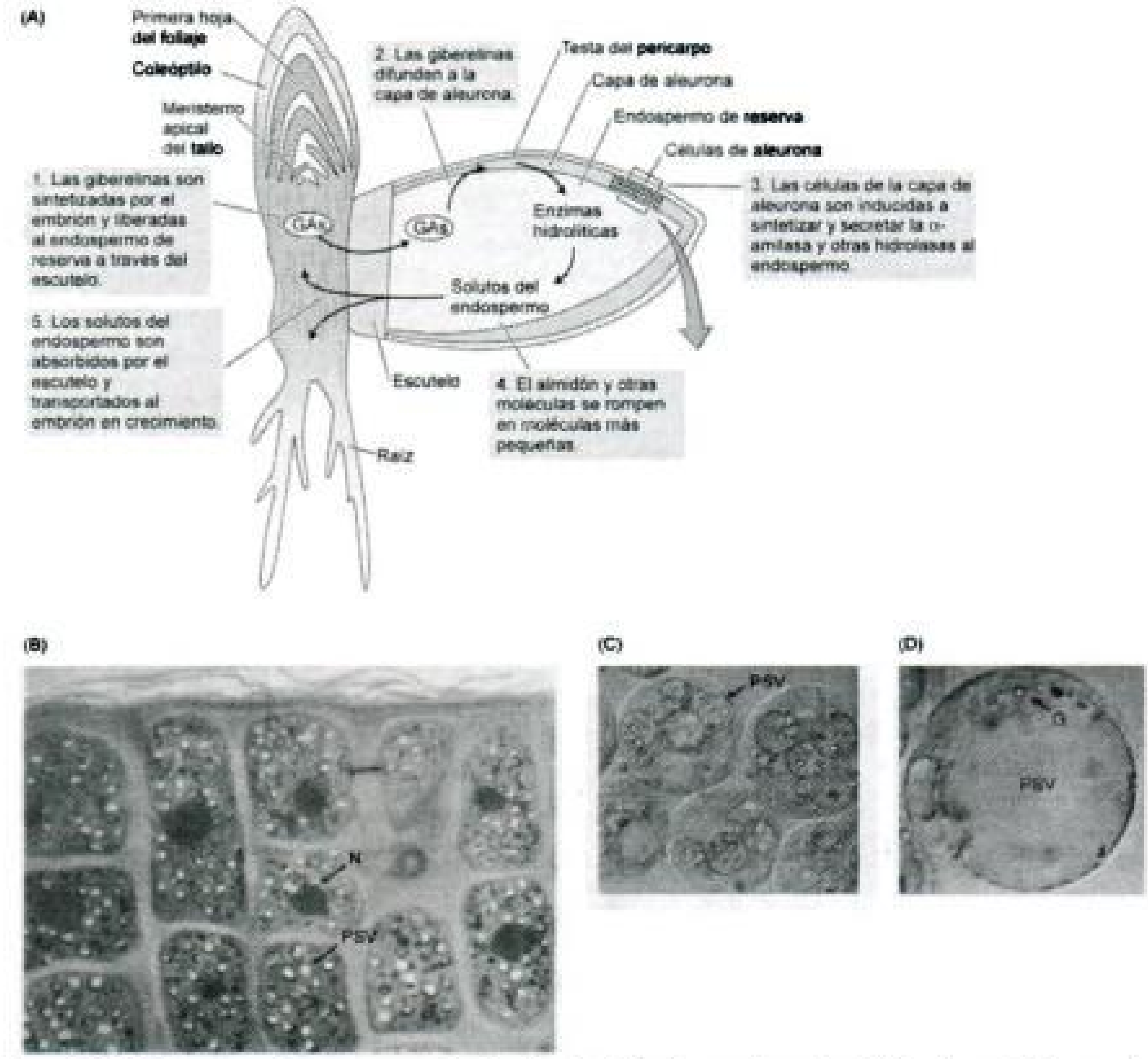

(A)
Primera hoja del follaje
Coleóptilo
Meristemo apical del tallo
1. Las giberelinas son sintetizadas por el embrión y liberadas al endospermo de reserva a través del escutelo.
5. Los solutos del endospermo son absorbidos por el escutelo y transportados al embrión en crecimiento.
2. Las giberelinas difunden a la capa de aleurona.
Testa del pericarpo
Capa de aleurona
Endospermo de reserva
Células de aleurona
GAs
GAs
Enzimas hidrolíticas
Solutos del endospermo
3. Las células de la capa de aleurona son inducidas a sintetizar y secretar la α-amilasa y otras hidrolasas al endospermo.
Escutelo
4. El almidón y otras moléculas se rompen en moléculas más pequeñas.
Raíz
(B)
N
PSV
(C)
PSV
(D)
G
PSV

Figura 20.33 Estructura de un grano de cebada y las funciones de varios tejidos durante la germinación (A). Fotos de microscopía de la capa de aleurona de cebada (B) y protoplastos de la aleurona de cebada en un estado temprano (C) y en uno tardío (D) de la producción de amilasa. Se pueden ver las vesículas proteicas de reserva (PSV) en cada célula. G = Fitina globular; N = núcleo. (Fotos de Bethke y otros 1997, cortesía de P. Bethke).

pared del fruto). El embrión consta del embrión vegetal propiamente dicho y su órgano de absorción especializado, el escutelo (*escutellum* en latín), que actúa absorbiendo las reservas alimenticias solubilizadas del endospermo y que las transmite al embrión en crecimiento. El endospermo está formado por dos tejidos: el endospermo amiláceo, que ocupan una posición central, y la capa de aleurona (Figura 20.33A).

El endospermo amiláceo, que carece de vida en su madurez, consta de células de pared delgada llenas de gránulos de almidón. La capa de aleurona rodea al endospermo amiláceo y está citológica y bioquímicamente muy diferenciada. Las células de la capa de aleurona están rodeadas por gruesas paredes celulares primarias y contienen un gran número de vacuolas para almacenar proteínas llamadas *cuerpos* *proteicos* (Figuras 20.33B-D), encerrados en una única membrana. Los cuerpos proteicos también contienen fitina, una mezcla de sales catiónicas (principalmente Mg^{2+} y K^+) del ácido *mio*-inositolhexafosfórico (ácido fítico).

Durante la germinación y las primeras etapas del crecimiento, las reservas alimenticias almacenadas en el endospermo (sobre todo, almidón y proteínas) son degradadas por una gran cantidad de enzimas hidrolíticas y los azúcares, aminoácidos y otros productos solubilizados son transportados al embrión en crecimiento. Los dos enzimas responsables de la hidrólisis del almidón son la α- y la β-amilasa. La α-amilasa hidroliza las cadenas de almidón a partir de las zonas internas para producir oligosacáridos que contienen residuos de glucosa con enlaces α-1,4. La β-amilasa hidroliza el almidón desde los extremos, dando lugar a la maltosa, un disacárido. La maltasa, posteriormente, convierte la maltosa en glucosa.

La α-amilasa se secreta al endospermo amiláceo de las semillas de cereales por dos tejidos, el cotiledón y la capa de aleurona (Figura 20.33A). La única función de la capa de aleurona de las semillas de las gramíneas monocotiledóneas (por ejemplo, cebada, trigo, arroz, centeno y avena) parece ser la síntesis y liberación de enzimas hidrolíticas. Después de cumplir esta función, las células de la capa de aleurona sufren una muerte celular programada.

Experimentos llevados a cabo en la década de 1960 confirmaron las observaciones de Gottlieb Haberlandt en 1890 de que la secreción de enzimas encargados de la degradación del almidón por la capa de aleurona depende de la presencia del embrión. Cuando se elimina el embrión (por ejemplo, eliminándolo de la semilla), no se produce degradación del almidón. Sin embargo, cuando una semilla sin embrión es incubada en las proximidades del embrión escindido, se producía la digestión del almidón, demostrando que el embrión producía una sustancia que difunde e inicia la producción de la α-amilasa en la capa de aleurona.

Pronto se descubrió que el ácido giberélico (GA_3) podía sustituir al embrión en la estimulación de la degradación del almidón. Cuando se incubaban semillas sin embrión en soluciones tampón que contenían ácido giberélico, se producía una estimulación de la secreción de la α-amilasa al medio (respecto a las semillas control incubadas en ausencia de ácido gibérelico), tras un período de latencia de 8 h.

El significado del efecto de las giberelinas ha sido clarificado al observar que el embrión podía sintetizar y liberar giberelinas (principalmente GA_1) al endospermo durante la germinación. Así, el embrión del cereal regula eficientemente la movilización de sus propias reservas alimenticias a través de la secreción de giberelinas, que estimulan la función digestiva de la capa de aleurona (Figura 20.33A).

Las giberelinas se han descrito como responsables de promover la producción y/o secreción de una gran variedad de enzimas hidrolíticas implicadas en la solubilización de las reservas del endospermo, destacando entre ellas la α-amilasa. Desde 1960, los investigadores han utilizado la capa de aleurona o, incluso, protoplastos de células de aleurona (véase la figura 20.33C y D), más que semillas sin embrión (véase la figura 20.33B). La capa de aleurona aislada, que está formada por una población de células diana homogéneas, proporciona una oportunidad única para estudiar los aspectos moleculares de la acción de las giberelinas en ausencia de tipos celulares insensibles.

En el siguiente análisis acerca de la producción de α-amilasa inducida por giberelinas nos centraremos en tres cuestiones:

1. ¿Cómo regulan las giberelinas el aumento de la α-amilasa?
2. ¿Dónde se encuentra localizado el receptor en la célula?
3. ¿Qué rutas de transducción de señal actúan entre el receptor de las giberelinas y la producción de α-amilasa?

El ácido giberélico aumenta la transcripción del mRNA de la α-amilasa

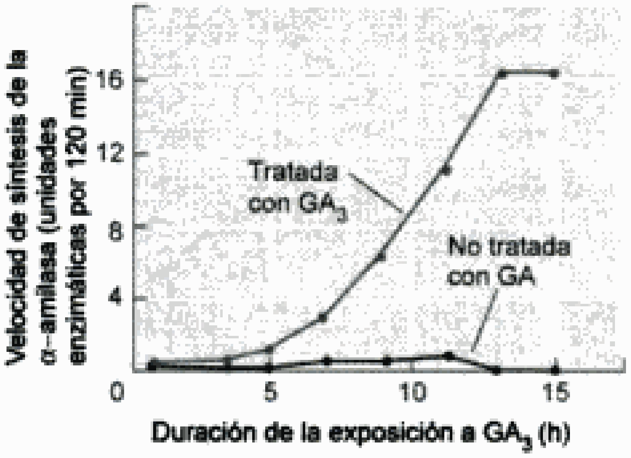
Previamente a las aproximaciones moleculares, ya existían indicaciones fisiológicas y bioquímicas de que el ácido giberélico podía aumentar la producción de la a-amilasa a nivel de transcripción (Jacobsen y col. 1995). Las dos evidencias principales son las siguientes:

1. La producción de α-amilasa estimulada por GA_3 se bloquea por inhibidores de la transcripción y de la traducción.
2. Los estudios de marcaje con isótopos pesados e isótopos radiactivos demostraron que la estimulación de la actividad de la α-amilasa por giberelinas implicaba la síntesis *de novo* del enzima, a partir de aminoácidos, más que de la activación del enzima preexistente.

Las evidencias moleculares actuales han demostrado que las giberelinas actúan principalmente induciendo la expresión del gen de la α-amilasa. Se ha mostrado que GA_3 aumenta el nivel del mRNA de la α-amilasa traducible en las capas de aleurona (Figura 20.34). Más aún, utilizando núcleos aislados, los investigadores demostraron que hay un aumento de la transcripción del gen de la α-amilasa más que una disminución de la tasa de renovación o «turnover» del mRNA (véase el **tema web 20.5**).

La purificación del mRNA de la α-amilasa, que se produce en las células de la capa de aleurona en grandes cantidades, permite el aislamiento de clones genómicos que contienen el gen estructural de la α-amilasa y las secuencias promotoras corriente arriba. Estas secuencias promotoras se fusionaron con el gen marcador que codifica la enzima β-glucuronidasa (GUS), y que produce un color azul en presencia de un sustrato artificial cuando el gen se está expresando. La regulación de la

(A) **Síntesis enzimática**


La síntesis de la α-amilasa en capas de aleurona aisladas de cebada es evidente tras 6–8 horas de tratamiento con GA_3 (10^{-6} M).

(B) **Síntesis de mRNA**

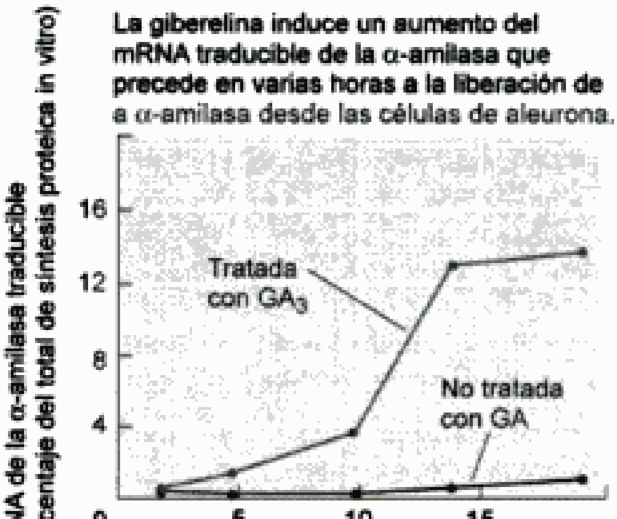

La giberelina induce un aumento del mRNA traducible de la α-amilasa que precede en varias horas a la liberación de a α-amilasa desde las células de aleurona.

Figura 20.34 Los efectos de las giberelinas sobre la síntesis de enzimas y de mRNA. El mRNA de la α-amilasa se midió por la producción *in vitro* de la α-amilasa como un porcentaje de la proteína producido por la traducción del mRNA. (Según Higgins y col. 1976).

transcripción por giberelinas se demostró cuando estos genes quiméricos (que contenían los promotores de la α-amilasa fusionados a genes marcadores) se introdujeron en protoplastos de aleurona, observándose un incremento en la producción del color azul estimulado por la acción de las giberelinas (Jacobsen y col. 1995).

La delección parcial de secuencias de bases conocidas de los promotores de la α-amilasa de varios cereales indica que las secuencias que le confieren la capacidad de responder a las giberelinas, llamadas *elementos de respuesta a giberelinas*, están localizadas a 200 ó 300 pares de bases de la zona de transcripción (véase el **tema web 20.6**).

El factor de transcripción *GA-MYB* regula la expresión del gen de la α-amilasa

La estimulación de la expresión del gen de la α-amilasa por giberelinas está mediada por un factor específico que se une al promotor del gen de la α-amilasa (Lovegrove y Hooley 2000). Para demostrar la existencia de estas proteínas en arroz, recientemente se ha aplicado una técnica llamada *ensayo de cambio de movilidad* (véase el **tema web 20.7**). Este ensayo detecta un aumento en el tamaño que se produce cuando el promotor del gen de la α-amilasa se une a las proteínas aisladas a partir de las células de aleurona tratadas con giberelinas (Ou-Lee y col. 1988). El «ensayo de cambio de movilidad» ha permitido la identificación de las secuencias reguladoras de DNA (**elementos de respuesta a giberelinas**) en el promotor que están implicadas en la unión de la proteína.

Los mismos elementos de respuesta a giberelinas se han encontrado en los promotores de la α-amilasa de cereales y se demostró que su presencia era esencial para la transcripción del gen de la α-amilasa inducida por giberelinas. Estos estudios demostraron que las giberelinas incrementaban o bien el nivel o bien la actividad de un factor de transcripción proteico que inicia la producción de mRNA de la α-amilasa al unirse a un elemento regulador previo en el promotor del gen de la α-amilasa.

La secuencia del elemento de respuesta a giberelinas en el promotor del gen de la α-amilasa parece ser similar a la de los sitios de unión para los factores de transcripción *MYB* que se sabe que están regulados por el crecimiento y el desarrollo en respuesta al fitocromo (véase el capítulo 14 en la página web y el capítulo 17) (Jacobsen y col. 1995). Estos conocimientos han permitido el aislamiento de mRNA del factor de transcripción *MYB*, denominado *GA-MYB*, que está asociado a la inducción por giberelinas de la expresión del gen de la α-amilasa.

La síntesis de mRNA de GA-MYB en las células de la capa de aleurona aumenta en las 3 horas siguientes a la aplicación de giberelinas, varias horas antes del aumento del mRNA de la α-amilasa (Gubler y col. 1995) (Figura 20.35). El inhibidor de la traducción, cicloheximida, no tiene ningún efecto sobre la producción de mRNA de MYB, indicando que GA-MYB es un gen de respuesta primaria, o gen temprano. Por el contrario, el gen de la α-amilasa es un gen de respuesta secundaria, o gen tardío, como indica el hecho de que su transcripción es bloqueada por la cicloheximida.

¿Cómo aumentan las giberelinas la expresión del gen *MYB*? Como la síntesis de proteínas no está implicada, las giberelinas pueden llevar a cabo la activación de uno o más factores de transcripción *preexistentes*. La activación de factores de trans-

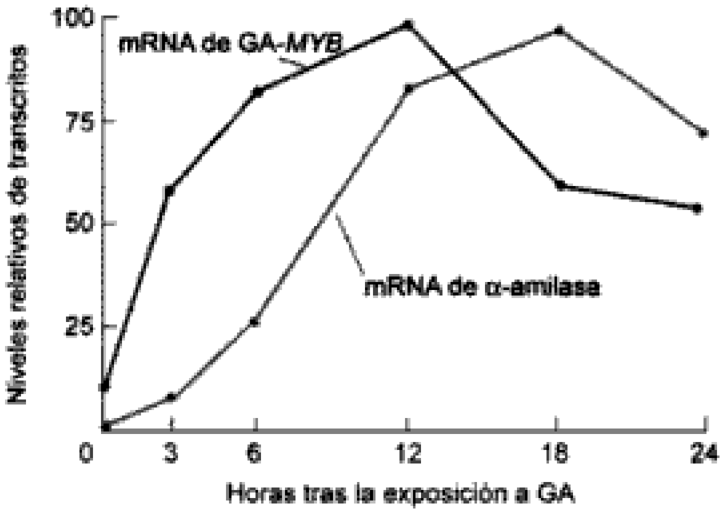


Figura 20.35 Seguimiento de la inducción de GA-MYB y del mRNA de la α-amilasa por el ácido giberélico. La producción del mRNA de GA-MYB precede al mRNA de la α-amilasa en unas 5 horas. Este resultado es coherente con la función de GA-MYB como un gen de respuesta temprana a GA, que regula la transcripción del gen de la α-amilasa. En ausencia de GA, los niveles tanto de GA-MYB como del mRNA de la α-amilasa son despreciables. (Según Gubler y col. 1995).

cripción está mediada por procesos de fosforilación proteica que se producen al final de la ruta de transducción de señal. Analizaremos ahora los datos conocidos de las rutas de señalización implicadas en la activación de la producción de α-amilasa al nivel de la producción de GA-MYB.

Los receptores de giberelinas pueden interactuar con las proteínas G de la membrana plasmática

Se ha sugerido que el receptor de las giberelinas tiene una localización superficial, dado que existen giberelinas que se han unido a microperlas y son incapaces de cruzar la membrana plasmática, pero todavía son capaces de inducir la producción de α-amilasa en protoplastos de aleurona (Hooley y col. 1991). Además, la microinyección de GA_3 en protoplastos de aleurona no tiene efecto, pero cuando los protoplastos son sumergidos en una solución de GA_3, se produce α-amilasa (Gilroy y Jones 1994). Estos resultados han sugerido que las giberelinas actúan en la cara externa de la membrana plasmática.

El uso de membranas plasmáticas purificadas y de giberelinas marcadas radiactivamente que habían sido modificadas para permanecer ancladas a proteínas mediante una unión débil, ha permitido el aislamiento de dos proteínas de unión a giberelinas en la membrana plasmática. Debido a que la presencia de giberelinas en exceso reduce la unión, y a que estas proteínas procedentes de una planta semienana de guisante dulce insensible a giberelinas se unieron a giberelinas menos intensamente, podrían constituir los receptores de giberelinas (Lovegrove y col. 1998).

En células animales, las proteínas heterotriméricas de unión al GTP (proteínas G) en la membrana celular están con frecuencia implicadas en las primeras etapas de la ruta entre el receptor hormonal y las posteriores señales citosólicas. Se han obtenido evidencias de que las proteínas G también están implicadas en los primeros acontecimientos en el proceso de señalización de las giberelinas en las células de la capa de aleurona (Lovegrove y col. 1998).

Se ha encontrado que el tratamiento de protoplastos de la capa de aleurona con un péptido llamado Mas7, que estimula el intercambio GDP/GTP por proteínas G, induce la expresión del gen de la α-amilasa y estimula la secreción de α-amilasa. Esto ha sugerido que dicho intercambio GDP/GTP en la membrana celular es una reacción implicada en la biosíntesis de α-amilasa inducida por giberelinas. Además, la expresión del gen de la α-amilasa inducido por giberelinas, y su secreción se inhibe por un análogo del nucleótido guanina que se une a la subunidad α de las proteínas G heterotriméricas e inhibe el intercambio GDP/GTP, lo que apoya la conclusión anterior.

Estudios genéticos recientes han apoyado el papel de las proteínas G como intermediarios de la ruta de transducción de señal de giberelinas. El mutante enano de arroz *dwarf1* (*d1*, del inglés *d*warf *1*, enano 1) posee un gen defectuoso que codifica la subunidad α. Además de ser enana, la capa de aleurona de los mutantes *d1* sintetizan menos α-amilasa en respuesta a giberelinas que las capas de aleurona del tipo silvestre. Esta reducción de la producción de α-amilasa por los mutantes *d1* demuestra que las proteínas G son uno de los componentes de la ruta de transducción de señal y que están implicados tanto en la respuesta al crecimiento como en la producción de α-amilasa. Sin embargo, la diferencia en la producción de α-amilasa entre el mutante y el tipo silvestre incrementa al aumentar la concentración de giberelinas, sugiriendo que las giberelinas también estimulan la producción de α-amilasa por una ruta independiente de la proteína G (Ashikari y col. 1999; Ueguchi-Tanak y col. 2000).

EL GMP cíclico, el Ca^{2+} y las proteína quinasas son posibles intermediarios en la señalización

En las células animales, las proteínas G pueden activar el enzima guanilil ciclasa, el enzima que sintetiza cGMP a partir de GTP, aumentando la concentración de cGMP. El GMP cíclico, a su vez, puede regular los canales iónicos, los niveles de Ca^{2+}, la actividad de proteína quinasas y la transcripción génica (véase el capítulo 14 en la página web). Se ha descrito que las giberelinas provocan un aumento transitorio de los niveles de cGMP en las capas de aleurona de cebada, sugiriendo una posible función

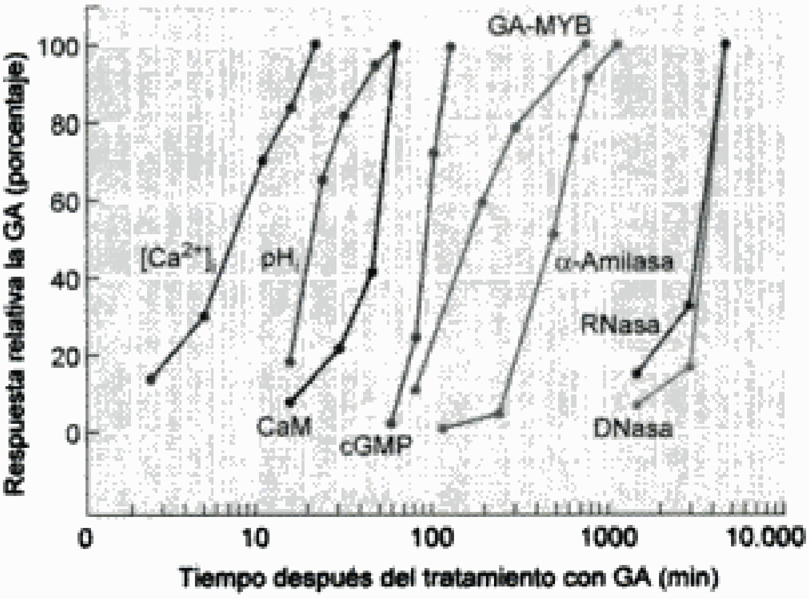


Figura 20.36 Tras la adición de GA a protoplastos de aleurona de cebada, se inicia una ruta de transducción de señal múltiple. Se muestra la coordinación de estos acontecimientos. (Según Bethke y col. 1997).

del cGMP en la producción de α-amilasa (Figura 20.36) (véase el **tema web 20.8**) (Pensen y col. 1996).

El calcio y la calmodulina, una proteína de unión al calcio, actúan como segundos mensajeros de muchas respuestas hormonales en células animales (véase el capítulo 14 en la página web), y se les ha implicado en varias respuestas de vegetales a estímulos ambientales y hormonales. Los procesos iniciales en protoplastos de aleurona tras la aplicación de giberelinas conducen a un aumento de la concentración citoplásmica, antes del inicio de la síntesis de α-amilasa (véanse las figuras 20.36 y 20.37) (Bethke y col. 1997). Sin el calcio, la secreción de α-amilasa no se produce, aunque en protoplastos de aleurona de cebada su síntesis se produce con normalidad, por lo que se puede concluir que, en cebada, el calcio no forma parte de la ruta de señalización para la transcripción del gen de la α-amilasa, aunque participa en el proceso de secreción enzimática.

La fosforilación de proteínas por la proteína quinasa es otro componente en muchas rutas de señalización y las giberelinas parece no ser una excepción. La inyección de un sustrato de proteína quinasa en protoplastos de aleurona de cebada para competir con la fosforilación proteica endógena inhibió la secreción de α-amilasa, sugiriendo la implicación de la fosforilación proteica en la ruta de secreción de la α-amilasa (Ritchie y Gilroy 1998a). Esto no afecta al aumento del calcio estimulado por giberelinas, indicando que la etapa de la proteína quinasa es posterior a los procesos de señalización del calcio.

Por todo ello, se puede concluir que la transducción de la señal de las giberelinas en las células de la capa de aleurona parece implicar a las proteínas G y al GMP cí-

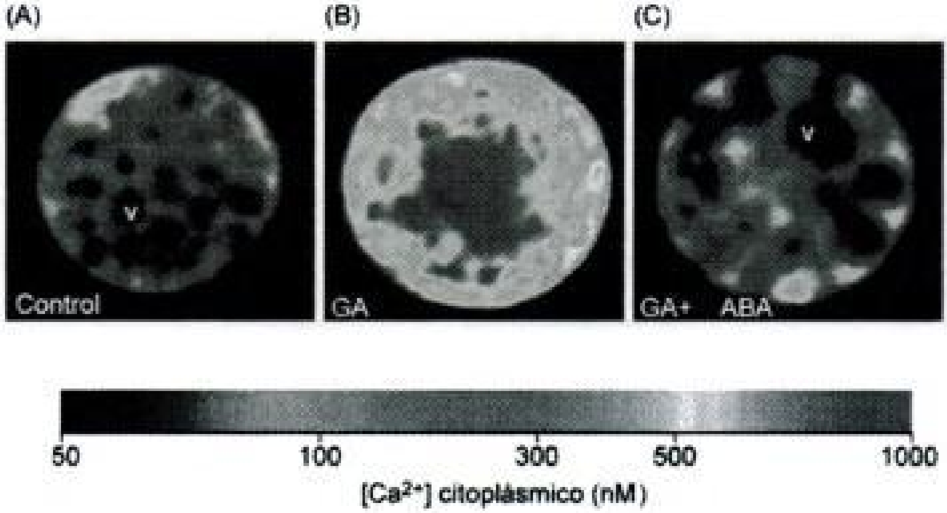


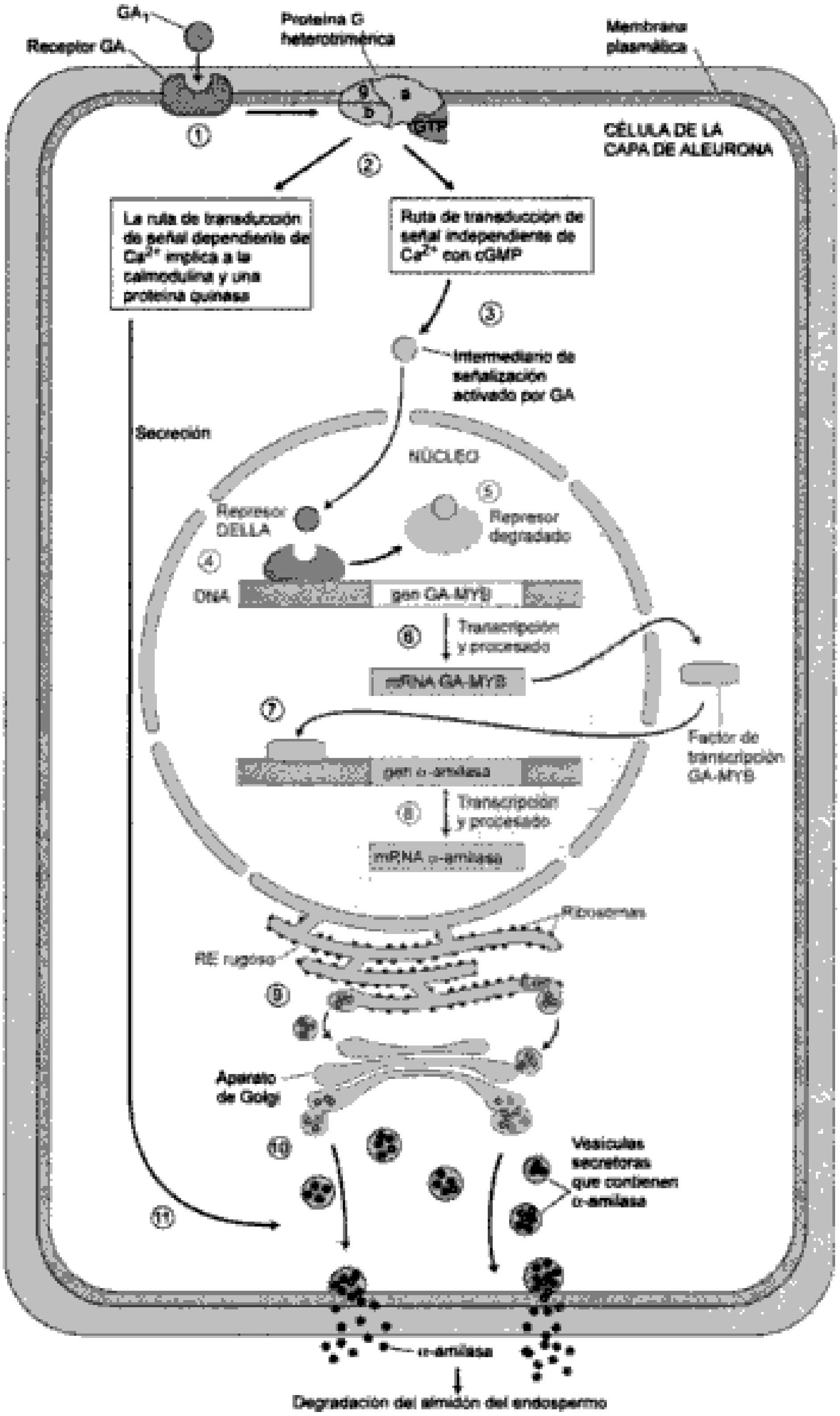
Figura 20.37 Se puede observar un aumento en la concentración de calcio en protoplastos de aleurona de cebada tras la adición de GA con el falso color de la imagen. El nivel de calcio correspondiente a los colores está en la escala inferior. (A) Protoplastos no tratados. (B) Protoplastos tratados con GA. (C) Protoplastos tratados con ácido abscísico (AB) y GA. El ácido abscísico tiene efectos contrarios a la GA en las células aleurona. (Según Ritchie y Gilroy 1998b). (Véase la fotografía en color en el CD).

clico, conduciendo a la producción de un factor de transcripción GA-MYB, que induce la transcripción del gen de la α-amilasa. La secreción de la α-amilasa tiene, inicialmente, componentes similares, pero lleva consigo un aumento del calcio citoplásmico y de la fosforilación proteica. Las rutas de señalización que se han comentado permanecen todavía sin dilucidar. La figura 20.38 ilustra un modelo de los componentes bioquímicos conocidos de las rutas de transducción de la señal de las giberelinas en las células de la capa de aleurona.

La ruta de transducción de señal de las giberelinas es similar al crecimiento y producción de α-amilasa

Está muy extendida la creencia de que la giberelina actúa inicialmente a través de una ruta o rutas comunes a todos los efectos sobre el desarrollo. Como hemos visto, las aproximaciones genéticas aplicadas al estudio del crecimiento estimulado por giberelinas dieron lugar a la identificación de la ruta de reguladores negativos *SPY/GAI/RGA*. Las proteínas SPY, GAI y RGA actúan como represores de las respuestas de las giberelinas. La giberelina desactiva estos represores.

Como la capa de aleurona de plantas enanas de trigo insensibles a giberelinas es también insensible a GA, las mismas rutas de transducción de señal que regulan el crecimiento parecen regular la producción de α-amilasa inducida por giberelinas. De hecho, se ha aislado en cebada un gen tipo *SPY* asociado a la producción de α-ami-


GA$_1$
Receptor GA
Proteína G heterotrimérica
g
a
b
GTP
Membrana plasmática
①
②
CÉLULA DE LA CAPA DE ALEURONA
La ruta de transducción de señal dependiente de Ca^{2+} implica a la calmodulina y una proteína quinasa
Ruta de transducción de señal independiente de Ca^{2+} con cGMP
③
Intermediario de señalización activado por GA
Secreción
NÚCLEO
⑤
Represor DELLA
Represor degradado
④
DNA
gen GA-MYB
⑥
Transcripción y procesado
mRNA GA-MYB
⑦
Factor de transcripción GA-MYB
gen α-amilasa
⑧
Transcripción y procesado
mRNA α-amilasa
Ribosomas
RE rugoso
⑨
Aparato de Golgi
⑩
Vesículas secretoras que contienen α-amilasa
⑪
α-amilasa
Degradación del almidón del endospermo

1. GA$_1$ del embrión se une primero a un receptor celular superficial.

2. El complejo receptor celular superficial de GA interacciona con una proteína G heterotrimérica, iniciando dos cadenas de transducción de señal separadas.

3. Una ruta independiente de calcio, que implica al cGMP, activa un intermedio de señalización.

4. El intermediario de señalización activado se une a las proteínas del represor DELLA en el núcleo.

5. Los represores DELLA son degradadados cuando se une la señal de la GA.

6. La inactivación de los represores DELLA permite la expresión del gen *MYB*, así como la de otros genes, para continuar con la transcripción, el procesado y la traducción.

7. La proteína MYB recién sintetizada entra en el núcleo y se une al promotor de los genes de la α-amilasa y otras enzimas hidrolíticas.

8. Se activa la transcripción de la α-amilasa y otros genes hidrolíticos.

9. La α-amilasa y otras hidrolasas son sintetizadas en el RE rugoso.

10. Las proteínas son secretadas vía el Golgi.

11. La ruta secretora necesita la estimulación por GA a través de una ruta de transducción de señal dependiente de calcio–calmodulina.

Figura 20.38 Modelo propuesto para la inducción de la síntesis de α-amilasa en la capa de aleurona de cebada por giberelinas. Una ruta independiente de calcio induce la transcripción del gen de la α-amilasa; una ruta dependiente de calcio está implicada en la secreción de la α-amilasa. (El regulador negativo SPY se ha omitida para una mayor claridad).

lasa (*HvSPY*) y su expresión es capaz de inhibir la síntesis de α-amilasa inducida por giberelinas, mientras que en la cadena de transducción de señal que regula la elongación del tallo también están implicados factores del tipo GA-MYB.

El mutante de arroz *dwarf1* también produce poca cantidad de α-amilasa en respuesta a giberelinas. Como destacamos antes, se conoce que la mutación que produce *dwarf1* se encuentra en la subunidad α del complejo de la proteína G, dando evidencias de que la acción de las giberelinas en la elongación del tallo y en la producción de la α-amilasa está regulada por las proteínas G heterotriméricas de la membrana plasmática.

Actualmente se están investigando las rutas completas de señalización del crecimiento por elongación y de la producción de la α-amilasa, por lo que será interesante ver cuánto tienen en común y dónde divergen.

RESUMEN

Las giberelinas son una familia de compuestos definidos por su estructura. Actualmente se conocen más de 125, algunas de ellas se encuentran únicamente en el hongo *Gibberella fujikuroi*. Las giberelinas inducen una elongación drástica del entrenudo en ciertos tipos de plantas, como las plantas enanas y las especies en roseta y en herbáceas. Otros efectos fisiológicos de las giberelinas producen cambios en la juventud y sexualidad de las flores y en la promoción y cuajado del fruto, el crecimiento del fruto y la germinación de las semillas. Las giberelinas tienen diversas aplicaciones comerciales, siendo las principales el aumento de la producción de uvas sin semillas y la elaboración de malta de cebada. Los inhibidores de la síntesis de giberelinas también se utilizan como agentes de enanismo.

Las giberelinas son identificadas y cuantificadas mediante cromatografía de gases con espectrometría de masas, tras su separación por cromatografía líquida de alta resolución. El bioensayo puede utilizarse para dar una idea inicial de la presencia de giberelinas en una muestra. Sólo ciertas giberelinas, sobre todo GA_1 y GA_4, son responsables de los efectos en las plantas; las otras son precursores o metabolitos.

Las giberelinas son compuestos terpenoides, formados de unidades de isopreno. El primer compuesto en la ruta isoprenoide implicado en la biosíntesis de las giberelinas es el *ent*-kaureno. La biosíntesis del *ent*-kaureno se produce en los plastos. El *ent*-kaureno es convertido en GA_{12} (el precursor del resto de giberelinas) en la membrana de los plastos y transportado al retículo endoplásmico a través de monooxigenasas citocromo P450. Normalmente se produce una hidroxilación en el C-13 para dar GA_{53}.

La GA_{53} o GA_{12}, que tienen 20 átomos de carbono cada una, son convertidas en otras giberelinas por la oxidación secuencial del carbono 20, seguida de una pérdida de este carbono para dar giberelinas de 19 carbonos. Este proceso va seguido de una hidroxilación en el carbono 3 para dar la giberelina activa del crecimiento GA_1 o GA_4. Una posterior hidroxilación en el C-2 elimina la actividad biológica de las giberelinas.

Las etapas posteriores a la síntesis de GA_{53} o GA_{12} se producen en el citoplasma. Se han aislado los genes de la GA 20-oxidasa (*GA20ox*), que cataliza el paso de GA_{53} a GA_{20}, la GA 3β-hidroxilasa (o GA 3-oxidasa; *GA3ox*), que convierte GA_{20} en GA_1 y la GA 2-oxidasa (*GA2ox*), que convierte la GA_1 (activa) en GA_8 (inactiva). Las giberelinas también pueden ser glucosiladas para dar bien una forma inactiva o bien una forma de almacenarlas.

El nivel endógeno de giberelinas activas regula su propia síntesis al iniciar o inhibir la transcripción de los genes de los enzimas de la biosíntesis y degradación de las giberelinas. Los factores ambientales como el fotoperíodo (que induce, por ejemplo, la germinación y la formación de tubérculos) y la temperatura (vernalización) y la presencia de auxina del ápice del tallo, también modula la biosíntesis de las giberelinas a través de la transcripción de los genes de los enzimas de la biosíntesis de las giberelinas. La luz regula la biosíntesis de GA_1 a través de la regulación de la transcripción del gen de la degradación de la giberelina y también produce un descenso en la capacidad de responder a la elongación del tallo por la presencia de giberelinas.

El efecto más notable de la aplicación de giberelinas es la elongación del tallo en plantas enanas y en roseta. Las giberelinas estimulan el crecimiento del tallo por promoción de la elongación y de la división celular. La actividad de algunos de los enzimas de la pared se ha correlacionado con el crecimiento inducido por giberelinas y la despolimerización de la pared celular. La estimulación de la división celular en el arroz está regulada por la transición entre la replicación del DNA y la división celular.

Hay tres mutantes que han sido muy útiles para identificar los genes implicados en la ruta de señalización de las giberelinas en el crecimiento del tallo: (1) enanas insensibles a las giberelinas (por ejemplo, *gai-1*), (2) mutantes con una deficiencia reversible por giberelinas (por ejemplo, *rga*) y (3) los que responden a las giberelinas constitutiva (mutantes «slender»).

GAI y RGA están relacionados con factores de transcripción nuclear que reprimen el crecimiento. Se degradan en presencia de las giberelinas. El mutante *gai-1*, y el gen mutante relacionado en trigo enano *rht*, han perdido la capacidad de responder a las giberelinas. SPY codifica una glicosil transferasa que es un miembro de una cadena de transducción de señal previa a GAI/RGA. Cuando una mutación interfiere con la función represora de una de ellas, las plantas son muy altas.

Las giberelinas inducen la transcripción del gen de la biosíntesis de la α-amilasa en granos de cereales de las células de la capa de aleurona. Este proceso está mediado por la transcripción de un factor de transcripción específico, GA-MYB, que se une a las secuencias reguladoras corriente arriba del gen de la α-amilasa, iniciando así la transcripción del gen. El receptor de las giberelinas se encuentra en la superficie de las células de la capa de aleurona. Las proteínas G y el GMP cíclico se han propuesto como miembros de la ruta de transducción de señal en el camino a GA-MYB. El calcio no está en la ruta de transcripción del gen de la α-amilasa, aunque participa en la secreción de la α-amilasa a través de la fosforilación proteica.

La ruta de transducción de señal probablemente es similar a la de la elongación del tallo y la producción de la α-amilasa. El trigo y el arroz enanos también están implicados en la elongación del tallo y en la producción de α-amilasa. Las giberelinas actúan como desactivadoras de represores, como SPY, GAI y RGA, con el objetivo de aumentar la elongación celular y la producción de a-amilasa.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

20.1 Estructura de algunas giberelinas importantes, sus precursores y derivados e inhibidores de la biosíntesis de giberelinas
Se muestran las estructuras de varias giberelinas e inhibidores de la biosíntesis de giberelinas.

20.2 La detección de giberelinas
La cuantificación de la giberelina hoy en día es una acción rutinaria, gracias a los modernos y sensibles sistemas físicos de detección.

20.3 La elongación del tallo inducido por giberelinas
Se analizan varios mecanismos de despolimerización de la pared celular inducidos por giberelinas.

20.4 La inducción de la división celular por CDKs y giberelinas
Se aporta información adicional sobre el mecanismo de regulación del ciclo celular por las giberelinas.

20.5 Inducción del mRNA de la α-amilasa por las giberelinas
Se aporta una evidencia de la transcripción del mRNA de la α-amilasa inducido por giberelinas.

20.6 Elementos promotores y de sensibilidad a las giberelinas
Los elementos de respuesta a las giberelinas median los efectos de las giberelinas en la transcripción de la α-amilasa.

20.7 Regulación de la expresión génica de la α-amilasa por factores de transcripción

Se describen los experimentos que permitieron la identificación de los factores de transcripción como intermediarios de la transcripción génica inducida por giberelinas.

20.8 La transducción de señal de las giberelinas

Varios intermediarios están implicados en la sensibilidad a giberelinas

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Aach H., Bode H., Robinson D.G. y Graebe J. E. (1997) *ent*-Kaurene synthase is located in proplastids of meristematic shoot tissues. *Planta* 202: 211–219.

Ashikari M., Wu J., Yano M., Sasaki T. y Yoshimura A. (1999) Rice gibberellin-insensitive dwarf mutant gene *Dwarf 1* encodes the a-subunit of GTP-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 10284–10289.

Behringer F. J., Cosgrove D. J., Reid J. B. y Davies P. J. (1990) Physical basis for altered stem elongation rates in internode length mutants of *Pisum*. *Plant Physiol.* 94: 166–173.

Bethke P. C., Schuurink R. y Jones R. L. (1997) Hormonal signalling in cereal aleurone. *J. Exp. Bot.* 48: 1337–1356.

Campbell N. A., Reece J. B. y Mitchell L. G. (1999) *Biology*, 5ª ed. Benjamin Cummings, Menlo Park, CA.

Carrera E., Bou J., Garcia-Martinez J. L. y Prat S. (2000) Changes in GA 20-oxidase gene expression strongly affect stem length, tuber induction and tuber yield of potato plants. *Plant J.* 22: 247–256.

Davies P. J. (1995) The plant hormones: Their nature, occurrence, and functions. En *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, P. J. Davies, ed., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 1–12.

Dill A. y Sun T. P. (2001) Synergistic derepression of gibberellin signaling by removing RGA and GAI function in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 159: 777–785.

Dill A., Jung H. S. y Sun T. P. (2001) The DELLA motif is essential for gibberellin-induced degradation of RGA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 14162–14167.

Elliott R. C., Ross J. J., Smith J. J. y Lester D. R. (2001) Feed-forward regulation of gibberellin deactivation in pea. *J. Plant Growth Regul.* 20: 87–94.

Fabian T., Lorbiecke R., Umeda M. y Sauter M. (2000) The cell cycle genes *cycA1;1* and *cdc2Os-3* are coordinately regulated by gibberellin in planta. *Planta* 211: 376–383.

Gilroy S. y Jones R. L. (1994) Perception of gibberellin and abscisic acid at the external face of the plasma membrane of barley (*Hordeum vulgare* L.) aleurone protoplasts. *Plant Physiol.* 104: 1185–1192.

Gubler F., Kalla R., Roberts J. K. y Jacobsen J. V. (1995) Gibberellin-regulated expression of a *myb* gene in barley aleurone cells: Evidence of myb transactivation of a high-pl alpha-amylase gene promoter. *Plant Cell* 7: 1879–1891.

Hazebroek J. P. y Metzger J. D. (1990) Thermoinductive regulation of gibberellin metabolism in *Thlaspi arvense* L. I. Metabolism of [^{2}H]-ent-Kaurenoic acid and [^{14}C]gibberellin A_{12}-aldehyde. *Plant Physiol.* 94: 157–165.

Hedden P. y Kamiya Y. (1997) Gibberellin biosynthesis: Enzymes, genes and their regulation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 431–460.

Hedden P. y Phillips A. L. (2000) Gibberellin metabolism: New insights revealed by the genes. *Trends Plant Sci.* 5: 523–530.

Helliwell C. A., Sullivan J. A., Mould R. M., Gray J. C., Peacock W. J. y Dennis E. S. (2001) A plastid envelope location of *Arabidopsis ent*-kaurene oxidase links the plastid and endoplasmic reticulum steps of the gibberellin biosynthesis pathway. *Plant J.* 28: 201–208.

Higgins T. J. V., Zwar J. A. y Jacobsen J. V. (1976) Gibberellic acid enhances the level of translatable mRNA for a-amylase in barley aleurone layers. *Nature* 260: 166–169.

Hooley R., Beale M. H. y Smith S. J. (1991) Gibberellin perception at the plasma membrane of *Avena fatua* aleurone protoplasts. *Planta* 183: 274–280.

Ingram T. J., Reid J. B. y Macmillan J. (1986) The quantitative relationship between gibberellin A_1 and internode growth in *Pisum sativum* L. *Planta* 168: 414–420.

Ingram T. J., Reid J. B., Potts W. C. y Murfet I. C. (1983) Internode length in *Pisum*. IV The effect of the *Le* gene on gibberellin metabolism. *Physiol. Plant.* 59: 607–616.

Irish E. E. (1996) Regulation of sex determination in maize. *Bioessays* 18: 363–369.

Jacobsen J. V., Gubler F. y Chandler P. M. (1995) Gibberellin action in germinated cereal grains. En *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology,* P. J. Davies, ed., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 246–271.

Jones H. D., Smith S. J., Desikan R., Plakidou D. S., Lovegrove A. y Hooley R. (1998) Heterotrimeric G proteins are implicated in gibberellin induction of a-amylase gene expression in wild oat aleurone. *Plant Cell* 10: 245–253.

Kende H., van-der K. E. y Cho H. T. (1998) Deepwater rice: A model plant to study stem elongation. *Plant Physiol.* 118: 1105–1110.

King K. E., Moritz T. y Harberd N. P. (2001) Gibberellins are not required for normal stem growth in *Arabidopsis thaliana* in the absence of GAI and RGA. *Genetics* 159: 767–776.

Kobayashi M., Spray C. R., Phinney B. O., Gaskin P. y MacMillan J. (1996) Gibberellin metabolism in maize: The stepwise conversion of gibberellin A_{12}-aldehyde to gibberellin A_{20}. *Plant Physiol.* 110: 413–418.

Lester D. R., Ross J. J., Davies P. J. y Reid J. B. (1997) Mendel's stem length gene (*Le*) encodes a gibberellin 3b-hydroxylase. *Plant Cell* 9: 1435–1443.

Lichtenthaler H. K., Rohmer M. y Schwender J. (1997) Two independent biochemical pathways for isopentenyl diphosphate and isoprenoid biosynthesis in higher plants. *Physiol. Plant.* 101: 643–652.

Lovegrove A. y Hooley R. (2000) Gibberellin and abscisic acid signalling in aleurone. *Trends Plant Sci.* 5: 102–110.

Lovegrove A., Barratt D. H. P., Beale M. H. y Hooley R. (1998) Gibberellin-photoaffinity labelling of two polypeptides in plant plasma membranes. *Plant J.* 15: 311–320.

O'Neill D. P., Ross J. J. y Reid J. B. (2000) Changes in gibberellin A_1 levels and response during de-etiolation of pea seedlings. *Plant Physiol.* 124: 805–812.

Ou-Lee T. M., Turgeon R. y Wu R. (1988) Interaction of a gibberellin-induced factor with the upstream region of an a-amylase gene in rice aleurone tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 6366–6369.

Peng J., Richards D. E., Hartley N. M., Murphy G. P., Flintham J. E., Beales J., Fish L. J., Pelica F., Sudhakar D., Christou P., Snape J. W., Gale M. D. y Harberd N. P. (1999) 'Green revolution' genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature* 400: 256–261.

Pensen S. P., Schuurink R. C., Fath A., Gubler F., Jacobsen J. V. y Jones R. L. (1996) cGMP is required for gibberellic acid-induced gene expression in barley aleurone. *Plant Cell* 8: 2325–2333.

Phinney B. O. (1983) The history of gibberellins. En *The Biochemistry and Physiology of Gibberellins*, A. Crozier, ed., Praeger, New York, págs. 15–52.

Reid J. B. y Howell S. H. (1995) Hormone mutants and plant development. En *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, P. J. Davies, ed., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 448–485.

Ritchie S. y Gilroy S. (1998a) Calcium-dependent protein phosphorylation may mediate the gibberellic acid response in barley aleurone. *Plant Physiol.* 116: 765–776.

Ritchie S. y Gilroy S. (1998b) Tansley Review No. 100: Gibberellins: Regulating genes and germination. *New Phytol.* 140: 363–383.

Ross J. J. y O'Neill D. P. (2001) New interactions between classical plant hormones. *Trends Plant Sci.* 6: 2–4.

Ross J. J., O'Neill D. P., Smith J. J., Kerckhoffs L. H. J. y Elliott R. C. (2000) Evidence that auxin promotes gibberellin A_1 biosynthesis in pea. *Plant J.* 21: 547–552.

Ross J. J., Reid J. B., Gaskin P. y Macmillan J. (1989) Internode length in *Pisum*. Estimation of GA_1 levels in genotypes *Le, le* and *led. Physiol. Plant.* 76: 173–176.

Sachs R. M. (1965) Stem elongation. *Annu. Rev. Plant. Physiol.* 16: 73–96.

Sauter M. y Kende H. (1992) Gibberellin-induced growth and regulation of the cell division cycle in deepwater rice. *Planta* 188: 362–368.

Schneider G. y Schmidt J. (1990) Conjugation of gibberellins in *Zea mays* L. En *Plant Growth Substances, 1988,* R. P. Pharis y S. B. Rood eds., Springer, Heidelberg, Germany, págs. 300–306.

Silverstone A. L. y Sun T. P. (2000) Gibberellins and the green revolution. *Trends Plant Sci.* 5: 1–2.

Silverstone A. L., Jung H. S., Dill A., Kawaide H., Kamiya Y. y Sun T. P. (2001) Repressing a repressor: Gibberellin-induced rapid reduction of the RGA protein in *Arabidopsis. Plant Cell* 13: 1555–1565.

Sun T. P. (2000) Gibberellin signal transduction. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3: 374–380.

Thornton T. M., Swain S. M. y Olszewski N. E. (1999) Gibberellin signal transduction presents . . . the SPY who O-GlcNAc'd me. *Trends Plant Sci.* 4: 424–428.

Toyomasu T., Kawaide H., Mitsuhashi W., Inoue Y. y Kamiya Y. (1998) Phytochrome regulates gibberellin biosynthesis during germination of photoblastic lettuce seeds. *Plant Physiol.* 118: 1517–1523.

Ueguchi-Tanaka M., Fujisawa Y., Kobayashi M., Ashikari M., Iwasaki Y., Kitano H. y Matsuoka M. (2000) Rice dwarf mutant *d1*, which is defective in the alpha subunit of the heterotrimeric G protein, affects gibberellin signal transduction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 11638–11643.

Wu K., Li L., Gage D. A. y Zeevaart J. A. D. (1996) Molecular cloning and photoperiod-regulated expression of gibberellin 20-oxidase from the long-day plant spinach. *Plant Physiol.* 110: 547–554.

Xu Y. L., Gage D. A. y Zeevaart J. A. D. (1997) Gibberellins and stem growth in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 114: 1471–1476.

Yamaguchi S. y Kamiya Y. (2000) Gibberellin biosynthesis: Its regulation by endogenous and environmental signals. *Plant Cell Physiol.* 41: 251–257.

Yang T., Davies P. J. y Reid J. B. (1996) Genetic dissection of the relative roles of auxin and gibberellin in the regulation of stem elongation in intact light-grown peas. *Plant Physiol.* 110: 1029–1034.

Zeevaart J. A. D., Gage D. A. y Talon M. (1993) Gibberellin A_1 is required for stem elongation in spinach. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 7401–7405.

Capítulo 21

CITOQUININAS: REGULADORES DE LA DIVISIÓN CELULAR

LAS CITOQUININAS FUERON DESCUBIERTAS mientras se buscaban factores que estimularan la división de las células vegetales (es decir, que sufrieran citocinesis). Desde su descubrimiento, se ha demostrado que las citoquininas afectan a otros muchos procesos fisiológicos y del desarrollo, entre los que se incluyen la senescencia de la hoja, la movilización de los nutrientes, la dominancia apical, la formación y actividad de los meristemos del ápice caulinar, el desarrollo floral, la ruptura de la dormición de la yema y la germinación de la semilla. Las citoquininas también parecen mediar en muchos aspectos del desarrollo regulado por la luz, como la diferenciación de los cloroplastos, el desarrollo del metabolismo autotrófico y la expansión del cotiledón y la hoja.

Las citoquininas regulan muchos procesos celulares, destacando entre ellos el control de la división celular en el crecimiento y desarrollo y se le considera un diagnóstico de esta clase de reguladores del crecimiento. Por estas razones, en nuestro análisis sobre la función de las citoquininas haremos primero unas breves consideraciones sobre la función de estas hormonas en la división celular durante el desarrollo normal, cuando hay una herida, en la formación del callo y en cultivos de tejidos.

Más adelante en el capítulo examinaremos la regulación de la proliferación celular vegetal por las citoquininas. Posteriormente, se examinarán las funciones de las citoquininas no relacionadas directamente con la división celular: diferenciación de cloroplastos, retraso de la senescencia y movilización de nutrientes. Finalmente, consideraremos los mecanismos moleculares que subyacen en la percepción y señalización de las citoquininas.

LA DIVISIÓN CELULAR EN EL DESAROLLO VEGETAL

Las células vegetales se forman como resultado de las divisiones celulares en los meristemos primarios o secundarios. Las células vegetales recién formadas normalmente se alargan y posteriormente se diferencian, pero, una vez asumen su función, ya sea de transporte, fotosíntesis o si actúan de soporte, normalmente no se dividen de nuevo durante el resto de la vida de la planta. En este sentido, parecen ser similares a las células animales, que se consideran que están finalmente diferenciadas.

No obstante, esta similitud con el comportamiento de las células animales es sólo superficial. Casi todos los tipos de células vegetales retienen su núcleo en la madurez y se ha demostrado que son capaces de dividirse. Esta propiedad interviene en muchos procesos, como la reparación de una herida y la abscisión de la hoja.

Las células vegetales diferenciadas pueden reanudar la división

En ciertas condiciones, las células vegetales maduras y diferenciadas pueden reanudar la división celular. En muchas especies, las células maduras del córtex y/o del floema reanudan la división para formar los meristemos secundarios como el cambium vascular o el cambium suberógeno. La zona de abscisión en la base del peciolo de la hoja es una región donde las células maduras del parénquima empiezan a dividirse de nuevo después de un período de inactividad mitótica, formando una capa de células de paredes relativamente débiles donde se produce la abscisión (véase el capítulo 22).

En los tejidos vegetales heridos se produce la división en el sitio de la herida. Incluso células altamente especializadas, como las fibras del floema y las células guar-

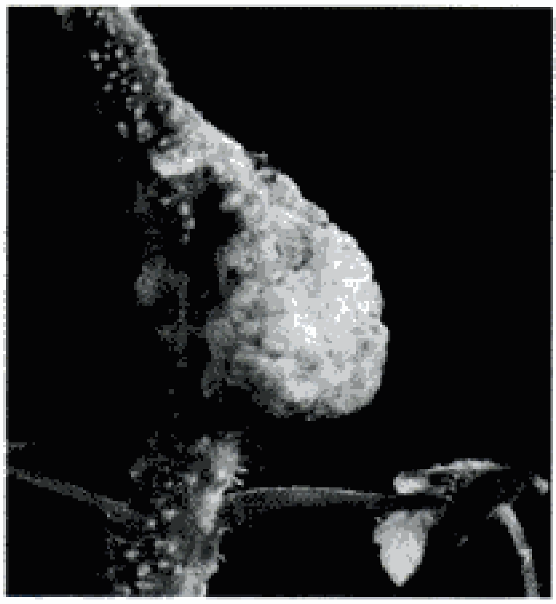


Figura 21.1 Tumores que se forman sobre un tallo de tomate que ha sido infectado con la bacteria del tumor de corona, *Agrobacterium tumefaciens*. Dos meses antes de que fuera tomada esta foto, se hirió el tallo y se inoculó una cepa virulenta de la bacteria del tumor de corona. (Según Aloni y otros 1998, cortesía de R. Aloni.)

da, pueden ser estimuladas para dividirse al menos una vez, tras una herida. La actividad mitótica inducida por una herida se suele autolimitar; ya que después de unas pocas divisiones, las células derivadas cesan la división y no se vuelven a dividir. No obstante, cuando la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* invade una herida puede producir una infección neoplástica (formación de un tumor) conocida como **tumor de corona**. Este fenómeno proporciona una evidencia natural clara del mantenimiento de la capacidad de división en las células vegetales adultas.

Sin la infección de *Agrobacterium*, la división celular producida por la herida se mantendría después de unos pocos días y algunas de las nuevas células se diferenciarían como una capa protectora de células de la corteza o de tejidos vasculares. Sin embargo, *Agrobacterium* cambia el carácter de las células que se dividen para responder a la herida, por eso se convierten en carcinogénicas. Éstas no cesan la división y continúan dividiéndose durante toda la vida de la planta para producir una masa desorganizada de tejido tumoral que se denomina **tumor** (Figura 21.1). Más adelante en este capítulo se analizan otros aspectos de esta importante enfermedad.

Los factores difusibles pueden controlar la división celular

Las consideraciones anteriores sugieren que las células vegetales maduras que han cesado la división lo hacen porque no reciben ninguna señal, posiblemente una hormona, que es necesaria para iniciar la división celular. La idea de que la división celular se inicia por un factor difusible se deriva de los trabajos del fisiólogo vegetal austriaco G. Haberlandt quien, en 1913, demostró que el tejido vascular contenía una sustancia o sustancias insolubles que estimulaban la división de tejidos heridos de patata. El esfuerzo realizado por determinar la naturaleza de este factor (o factores) permitió el descubrimiento de las citoquininas en los años 1950.

Los tejidos y órganos vegetales pueden ser cultivados

Los biólogos han estado intrigados durante mucho tiempo por la posibilidad de que tejidos, órganos y células pudieran crecer en cultivos donde hubiera un medio nutritivo sencillo, de la misma manera a como los microorganismos son cultivados en los tubos de ensayo o en las placas petri. En los años 1930, Philip White demostró que las raíces de tomate podían crecer indefinidamente en un medio nutritivo sencillo que contenía sacarosa, sales minerales esenciales y unas pocas vitaminas (White 1934).

A diferencia del comportamiento de las raíces, los tejidos de tallos aislados mostraban un crecimiento muy reducido en cultivos a los que no se le habían añadido hormonas en el medio. Parecía existir algo más de crecimiento si se añadían auxinas al medio, pero normalmente este crecimiento no se mantenía. Con frecuencia este crecimiento mantenido por las auxinas se debe sólo al alargamiento celular. Los tallos de la mayoría de las plantas, no pueden crecer en un medio sencillo en el que no haya hormonas, aunque el tejido de tallo cultivado contenga meristemos apicales o laterales, al menos hasta que se forman las raíces adventicias. Una vez ha enraizado el tejido del tallo, el crecimiento del brote se reanuda, pero ahora integrado en la planta completa.

Estas observaciones nos dicen que hay una diferencia en la regulación de la división celular en la raíz y en los meristemos del brote. Ello sugiere que algún factor (o factores) derivado de la raíz puede regular el crecimiento en el brote.

El tejido del tumor de corona del tallo es una excepción a estas generalizaciones. Después de que se ha formado un tumor en una planta, la bacteria que ha inducido la formación del tumor muere si se produce un calentamiento de la planta a 42°C. La planta podrá sobrevivir y su tejido tumoral podrá continuar creciendo, pero ahora como un tumor libre de bacterias (Braun 1958).

Los tejidos extraídos de estos tumores libres de bacterias crecen en un medio de cultivo sencillo, químicamente definido, medio que no podría soportar la proliferación de tejidos normales del tallo de las mismas especies. Sin embargo, estos tejidos derivados del tallo no están organizados. A pesar de que son una masa de células desorganizada y relativamente indiferenciada se las ha denominado **tejido calloso**.

El tejido calloso se desarrolla algunas veces en las plantas en respuesta a una herida o en las uniones de los injertos, en el sitio donde se juntan los tallos de dos plantas diferentes. Los tumores de corona son un tipo específico de callo, tanto si crecen anclados a la planta como si lo hacen en cultivo. El hecho de que el tejido calloso del tumor de corona pudiera ser cultivado demostró que las células derivadas de los tejidos del tallo eran capaces de proliferar en un cultivo y que el contacto con las bacterias puede inducir a las células a producir factores estimulantes de la división celular.

DESCUBRIMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LAS CITOQUININAS

En un esfuerzo por iniciar y mantener la proliferación de los tejidos normales del tallo en cultivo se probaron una gran cantidad de sustancias. Se encontró que había materiales tan distintos como extractos de levadura o jugo de tomate que tenían un efecto positivo, al menos en algunos tejidos. Sin embargo, la mayoría de las estimulaciones bruscas ocurrían cuando se añadía al medio de cultivo el endospermo líquido de coco, también conocido como leche de coco.

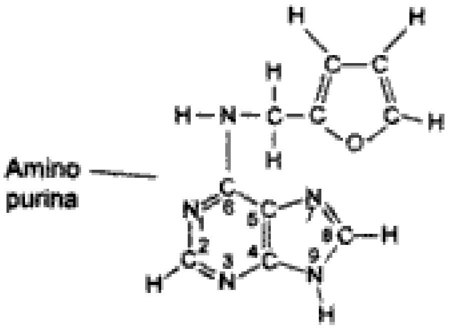
El medio nutritivo de Philip White complementado con una auxina y entre un 10 y un 20 % de leche de coco mantenía la división de las células de tallo maduras y diferenciadas de una gran variedad de especies y su continua proliferación formaba el tejido calloso (Caplin y Steward 1948). Este descubrimiento indicaba que la leche de coco contiene una sustancia o sustancias que estimulan a las células maduras para entrar y permanecer en el ciclo de división celular.

Posteriormente, se demostró que la leche de coco contiene la citoquinina conocida como zeatina, pero este hallazgo no se produjo hasta años después del descubrimiento de las citoquininas (Letham 1974). La primera citoquinina en ser descubierta fue un análogo sintético de la quinetina.

La quinetina fue descubierta como un producto de la ruptura del DNA

En los años 1940 y 1950, Folke Skoog y sus colaboradores en la Universidad de Wisconsin probaron muchas sustancias por su capacidad para iniciar y mantener la proliferación del tejido medular de cultivos de tabaco. Habían observado que la base adenina de los ácidos nucleicos tenía un ligero efecto promotor, por eso se ensayó la posibilidad de que los ácidos nucleicos estimularan la división en este tejido. Sorprendentemente, el DNA del esperma de arenque autoclavado tenía un gran poder en la división celular.

Después de mucho trabajo, a partir del DNA autoclavado, se identificó una pequeña molécula denominada **quinetina**. Se demostró que era un derivado de la adenina (o aminopurina), la 6-furfurilaminopurina (Miller y col. 1955):



Quinetina

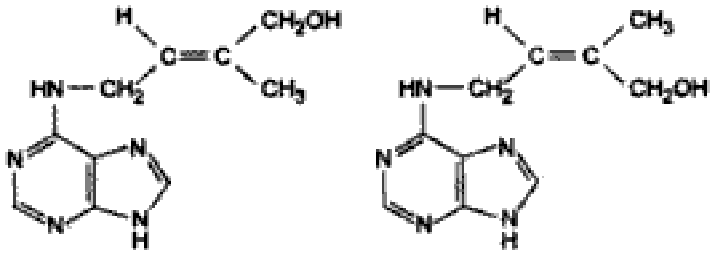
En presencia de una auxina, la quinetina estimulaba la proliferación de cultivos de tejido parenquemático de la médula del tabaco. No se producía la división celular inducida por quinetina si las auxinas no estaban en el medio. (Para más detalles, véase el **tema web 21.1**).

La quinetina no es un regulador natural del crecimiento vegetal y no es una base del DNA de cualquier especie. Es un producto producido por la degradación inducida por calor del DNA, en la cual el azúcar desoxirribosa de la adenosina se convierte en un anillo furfurilo y cambia desde la posición 9 a la 6 en el anillo de adenina.

El descubrimiento de la quinetina fue muy importante porque demostró que la división celular podría ser inducida por una sustancia química sencilla. Más importante aún, el descubrimiento de la quinetina sugería que en la naturaleza debían existir moléculas con estructuras similares a la quinetina que regulasen la actividad de la división celular en la planta. Esta hipótesis se demostró que era correcta.

La zeatina es la citoquinina natural más abundante

Varios años después de descubrirse la quinetina, en extractos de endospermo inmaduro de maíz (*Zea mays*) existía una sustancia que tenía el mismo efecto biológico que una quinetina. Esta sustancia estimulaba a las células maduras a dividirse cuando era añadida al medio de cultivo junto con una auxina. Letham (1973) aisló la molécula responsable de esta actividad y la identificó como la *trans*-6-(4-hidroxi-3-metilbut-2-enilamino)purina, y la llamó **zeatina**:

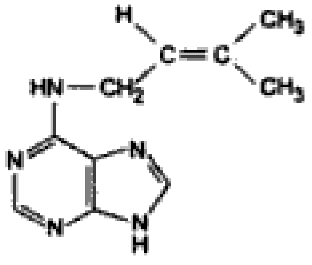


***trans*-Zeatina (Z)** ***cis*-Zeatina**
6-(4-Hidroxi-3-metilbut-2-enilamino)purina

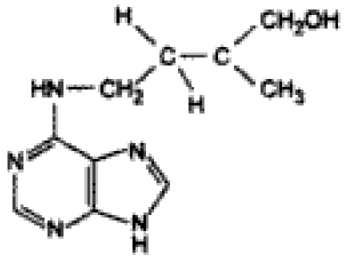
La estructura molecular de la zeatina es similar a la de la quinetina. Las dos moléculas son derivados de la adenina o aminopurina. Aunque tienen cadenas laterales diferentes, en ambos casos la cadena lateral está unida al nitrógeno 6 de la aminopurina. Como la cadena lateral de la zeatina tiene un doble enlace, puede existir en la configuración *cis* o *trans*.

En las plantas superiores, la zeatina libre está presente en las configuraciones *cis* y *trans*, siendo ambas formas interconvertibles por la *zeatina isomerasa*. Aunque la forma *trans* es mucho más activa en los ensayos biológicos, la forma *cis* también tiene funciones importantes, dado que se encuentra en niveles elevados en una gran cantidad de especies vegetales y en determinados tejidos. Recientemente se ha clonado un enzima, la glucosil transferasa específica de la *cis*-zeatina, lo que apoya la función biológica de la isoforma de la zeatina.

Desde su descubrimiento en el endospermo inmaduro de maíz, se ha encontrado zeatina en muchas plantas y en algunas bacterias. La zeatina es la citoquinina predominante en las plantas superiores, pero en muchas plantas y otras especies bacterianas se han aislado otras aminopurinas sustituidas que son activas como citoquininas. Estas aminopurinas se diferencian de la zeatina en la naturaleza de la cadena lateral anclada al nitrógeno 6 o en el anclaje de la cadena lateral al carbono 2:



N^6-(D^2-Isopentenil)-adenina (IP)



Dihidrozeatina (DZ)

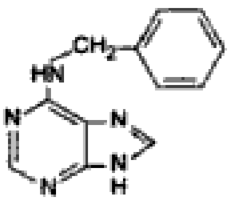
Además, estas citoquininas pueden estar presentes en la planta como un **ribósido** (en el que el azúcar ribosa está unido al nitrógeno 9 del anillo de purina), un **ribótido** (en el que el azúcar ribosa contiene un grupo fosfato) o un **glucósido** (en el que una molécula de glucosa se une al nitrógeno de las posiciones 3, 7 ó 9 del anillo de purina o al oxígeno de la zeatina o a la cadena lateral de la dihidrozeatina) (Figura 21.3) (véase el **tema web 21.2**).

Algunos compuestos sintéticos pueden imitar o antagonizar la acción de las citoquininas

Las citoquininas se definen como compuestos que tienen actividades biológicas similares a las de la trans-zeatina. Entre estas actividades se incluye la capacidad de:

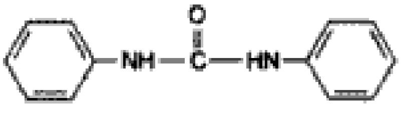
- Inducir la división celular en el tejido calloso en presencia de auxinas.
- Promover la formación de yemas o raíces a partir de cultivos callosos cuando se encuentran en una proporción molar determinada.
- Retrasar la senescencia de hojas.
- Promover la expansión de los cotiledones en dicotiledóneas.

Se han sintetizado y probado un gran número de compuestos químicos por su actividad como citoquininas. El análisis de estos compuestos proporciona una idea de las necesidades estructurales para su actividad. Casi todos los compuestos activos como citoquininas son aminopurinas sustituidos en el N^6, como la benciladenina (BA):

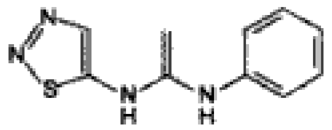


Benziladenina
(benzilaminopurina)
(BA)

y todas las citoquininas naturales son derivados aminopurinas. También hay compuestos citoquinina sintéticos, que no se han encontrado en las plantas, destacando las citoquininas del tipo difenilurea, como el tidiazurón, que se usa comercialmente como defoliante y herbicida:



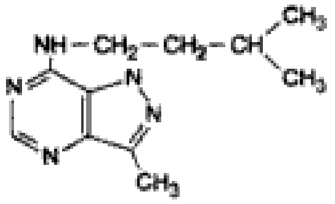
N,N'-Difenilurea (no es una amino purina con escasa actividad)



Tidiazurón

En el estudio de las necesidades estructurales para la actividad citoquinina, se han encontrado algunas moléculas con actividad antagónica a las citoquininas:

Citoquinina (nótese el anillo purina modificado)



3-Metil-7-(3-metilbutilamino)pirazolo[4,3-D]pirimidina

Estas moléculas son capaces de bloquear la acción de las citoquininas y sus efectos pueden ser neutralizados por la adición de más citoquininas. Las moléculas con actividad citoquinina que se producen naturalmente pueden detectarse e identificarse por una combinación de métodos físicos y bioensayos (véase el **tema web 21.3**).

Las citoquininas naturales están tanto en la forma libre como en la forma conjugada

Las citoquininas están presentes como moléculas libres (no unidas covalentemente a ninguna otra macromolécula) en plantas y algunas otras bacterias. Se han encontrado citoquininas libres en una gran cantidad de angiospermas y probablemente son universales en este grupo de plantas. También se han encontrado en algas, diatomas, musgos, helechos y coníferas.

El papel regulador de las citoquininas se ha demostrado sólo en angiospermas, coníferas y musgos, pero pueden funcionar como reguladores del crecimiento, desarrollo y metabolismo de todas las plantas. La zeatina es la citoquinina libre natural más abundante, pero la *dihidrozeatina* (DZ) y la isopenteniladenina (iP) son comunes en las plantas superiores. Se han identificado numerosos derivados de estas tres citoquininas en extractos vegetales (véanse las estructuras que se ilustran en la figura 21.6)

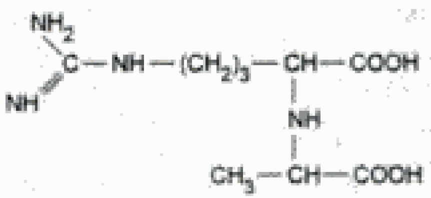
El RNA de transferencia (RNAt) no sólo contiene los cuatro nucleótidos usados para construir todas las otras formas de RNA, sino también otros nucleótidos inusuales en los que la base ha sido modificada. Algunas de estas bases «hipermodificadas» actúan como citoquininas cuando se hidroliza el RNAt y se han probado en bioensayos de citoquininas. Algunos RNAt de plantas superiores contienen *cis*-zeatina como base hipermodificada. Sin embargo, las citoquininas no se han confinado a los RNAt vegetales. También forman parte de algunos RNAt de todos los organismos, desde las bacterias hasta el hombre. (Para más detalles, véase el **tema web 21.4**).

La citoquinina hormonalmente activa es la base libre

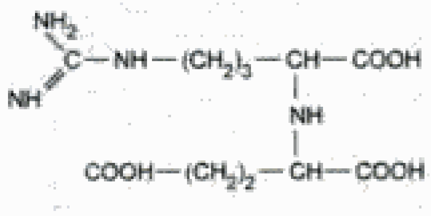
Ha sido difícil determinar qué clases de citoquininas representan la forma activa de la hormona, pero la reciente identificación del receptor de citoquininas CRE1 ha permitido resolver esta cuestión. Experimentos relevantes han demostrado que la forma de base libre de la *trans*-zeatina, pero no su derivado ribósido o ribótido, se une directamente al receptor CRE1, indicando que la base libre es la forma activa (Yamada y col. 2001).

Aunque se cree que la forma de la base libre de la *trans*-zeatina es la citoquinina hormonalmente activa, algunos otros compuestos tienen actividad citoquinina, bien porque son rápidamente convertidos en zeatina, dihidrozeatina o isopenteniladenina, o porque liberan estos compuestos a partir de otras moléculas como los glucósidos de citoquinina. Por ejemplo, los cultivos de tabaco no crecen si no se aporta al medio de cultivo ribósidos de citoquinina que son convertidos en la base libre.

Otro ejemplo, los cotiledones escindidos de rábano crecen cuando son cultivados en una solución que contiene la base benciladenina como citoquinina (BA, una



Octopina



Nopalina

Figura 21.5 Las dos principales opinas, la octopina y la nopalina, se encuentran sólo en los tejidos tumorales de corona. Los genes necesarios para su síntesis se encuentran en el T-DNA de *Agrobacterium*. La bacteria, pero no la planta entera, puede utilizar las opinas como fuente de energía.

Una pequeña parte del plásmido Ti, conocida como **T-DNA**, se incorpora en el DNA nuclear de la célula vegetal huésped (Figura 21.4) (Chilton, 1983). El T-DNA contiene genes necesarios para la biosíntesis de la *trans*-zeatina y de las auxinas, así como una clase particular de compuestos que contienen nitrógeno, denominados *opinas* (Figura 21.5). Las opinas no son sintetizadas en las plantas excepto después de las transformaciones del tumor de corona.

El gen del T-DNA implicado en la biosíntesis de las citoquininas (conocido como gen *ipt*[1]) codifica una **isopenteniltransferasa (IPT)**, un enzima que transfiere el grupo isopentenilo desde el DMAPP al AMP (adenosina monofosfato) para formar el ribótido de isopenteniladenina (Figura 21.6) (Akiyoshi y col. 1984; Barry y col. 1984). El gen *ipt* se ha llamado locus *tmr*, porque cuando está inactivo por una mutación da lugar a tumores «radiculares». El ribótido de isopenteniladenina puede ser convertido a las citoquininas activas (isopenteniladenina, *trans*-zeatina y dihidrozeatina) por enzimas endógenas de las células vegetales. Esta ruta de conversión es similar a la ruta de síntesis de citoquininas que se ha postulado para un tejido normal (véase la figura 21.6).

El T-DNA también contiene dos genes que codifican enzimas que transforman el triptófano en la auxina ácido indolacético (IAA). La ruta de conversión del triptófano es distinta de la que ocurre en las células no transformadas e implica a la indolacetamida como un intermediario (véase la figura 19.6). El gen *ipt* y los dos genes del

---

[1] Los genes bacterianos, a diferencia de los genes vegetales, se escriben con letra cursiva en minúsculas.

T-DNA implicados en la biosíntesis de la auxina son **fitooncogenes,** dado que inducen tumores en las plantas (véase el **tema web 21.5**).

Como los promotores del T-DNA son promotores de vegetales eucariotas, ninguno de los genes del T-DNA se expresa en la bacteria, excepto cuando se transcriben después de ser introducidos en los cromosomas vegetales. La transcripción de estos genes conduce a la síntesis de zeatina, una auxina y una opina. Las bacterias pueden utilizar la opina como fuente de nitrógeno, pero las plantas superiores no. Así, durante la transformación de las células vegetales, las bacterias se proporcionan a sí mismas un medio de expansión (el tejido tumoral) en el cual las células huéspedes son dirigidas a producir una sustancia (la opina) que sólo puede ser utilizada por la bacteria para su nutrición (Bomhoff y col. 1976).

Una importante diferencia en el control de la biosíntesis de citoquininas en los tejidos tumorales de corona y en los tejidos normales es que los genes del T-DNA para la síntesis de citoquininas se expresan en todas las células infectadas, incluso en aquellas en que los genes nativos vegetales para la biosíntesis de la hormona están reprimidos.

El IPT cataliza la primera etapa de la biosíntesis de citoquininas

El primer paso de la biosíntesis de las citoquininas es la transferencia del grupo isopentilo del dimetilalil difosfato (DMAPP) a una adenosina. El primer enzima identificado que catalizaba dicha actividad se encontró en el moho *Dictyostelium discoideum* y posteriormente se encontró que el gen *ipt* de *Agrobacterium tumefaciens* codificaba dicho enzima. En ambos casos, el DMAPP y AMP son convertidos a isopentenilo-5'-monofosfato (iPMP).

Como comentamos anteriormente, las citoquininas también están presentes en los RNAt de la mayoría de las células, tanto en células animales como en vegetales. Las citoquininas de los RNAt son sintetizadas por modificación de residuos específicos de adenina con el RNAt totalmente transcrito. Como con las citoquininas libres, los grupos isopentenilo son transferidos a las moléculas de adenina desde el DMAPP por un enzima llamado RNAt-IPT. Se han clonado los genes de la RNAt-IPT de muchas especies.

La posibilidad de que las citoquininas libres sean derivados del RNAt se ha ido extendiendo. Aunque las citoquininas unidas al RNAt puedan actuar como señales hormonales para las células vegetales, si se degrada el RNAt y se alimenta a las células de nuevo, es improbable que una cantidad significativa de la citoquinina libre en las plantas derive del recambio de RNAt.

Se ha identificado un enzima con actividad IPT en extractos crudos de varios tejidos vegetales, pero los investigadores fueron incapaces de purificar la proteína para homogeneizarla. Recientemente, se han clonado los genes *IPT* después de analizar el genoma de *Arabidopsis* en busca de posibles secuencias similares a las de los genes *ipt* (Kakimoto 2001; Takei y col. 2001). Se han identificado nueve genes *IPT* en *Arabidopsis* (muchos más de los presentes en los genomas animales, que suelen contener uno o dos de estos genes utilizados en la modificación del RNAt).

Los análisis filogenéticos revelaron que uno de los genes *IPT* de *Arabidopsis* es similar al gen RNAt-*ipt* bacteriano, otro es similar al RNAt-*ipt* eucariótico y los otros siete forman un grupo distinto con otras secuencias vegetales (véase el **tema web 21.6**). La agrupación de los siete genes *ipt* de *Arabidopsis* en este único grupo vegetal proporciona una pista de que estos genes pueden codificar el enzima biosintético de las citoquininas.

Las proteínas codificadas por estos genes se expresaron y analizaron en *E. coli*. Se encontró que, excepto uno de estos genes que es el más relacionado con el gen RNAt-*ipt* animal, estos genes codifican proteínas capaces de sintetizar citoquininas libres. A diferencia de lo que ocurre en las bacterias, no obstante, los enzimas de *Arabidopsis* que se han analizado utilizan sobre todo ATP y ADP frente al AMP (véase la figura 21.6).

Las citoquininas son transportadas desde las raíces al tallo a través del xilema

Los meristemos apicales son los principales sitios de la síntesis de las citoquininas libres en las plantas enteras. Las citoquininas sintetizadas en las raíces parecen moverse a través del xilema al tallo, junto con el agua y los minerales incorporados a través de las raíces. Esta ruta de movimiento de las citoquininas se basa en el análisis del xilema exudado.

Cuando se corta el tallo de una planta enraizada cerca de la línea del suelo, la savia del xilema continúa fluyendo desde el extremo cortado durante un tiempo. Este xilema exudado contiene citoquininas. Si el suelo que cubre las raíces se mantiene húmedo, el flujo del xilema exudado puede continuar durante varios días. Dado que el contenido de citoquininas del exudado no disminuye, es probable que las citoquininas encontradas en el exudado se hayan sintetizado en las raíces. Además, los factores ambientales que interfieren en la función de la raíz, como el estrés hídrico, reducen el contenido de citoquininas del xilema exudado (Itai y Vaadia 1971). Por el contrario, el suplemento de nitrato a raíces de maíz con carencias de nitrógeno produce un aumento de la concentración de citoquininas en la savia del xilema (Samuelson 1992), que se ha correlacionado con una inducción de la expresión génica regulada por citoquininas en los tallos (Takei y col. 2001).

Aunque está bien establecida la presencia de citoquininas en el xilema, experimentos recientes con injertos han generado dudas sobre el papel de esta citoquinina

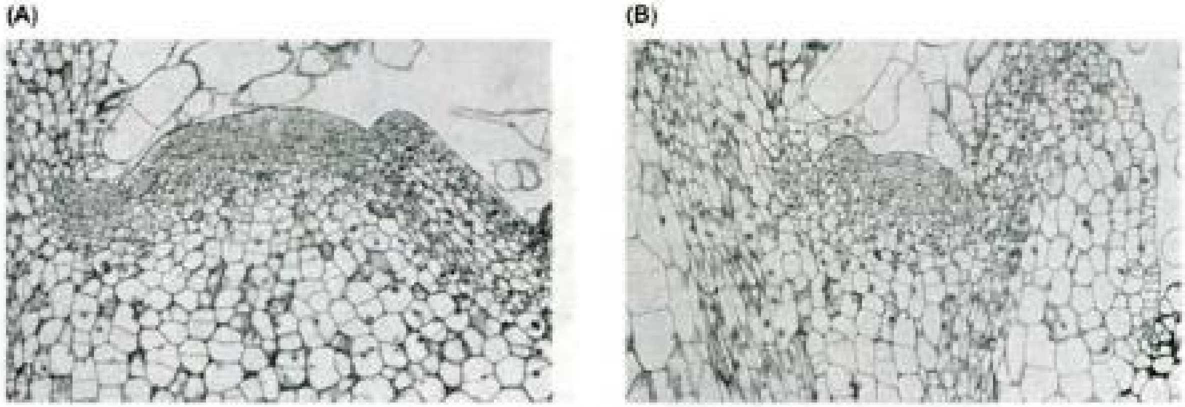


Figura 21.9 LA citoquinina se necesita para el crecimiento normal del meristemo del ápice caulinar. (A) Sección longitudinal de un meristemo del ápice caulinar de una planta de tabaco tipo silvestre. (B) Sección longitudinal de un meristemo del ápice caulinar de una planta transgénica de tabaco que está sobreexpresando el gen que codifica la citoquinina oxidasa (AtCKX1). Nótese la reducción del tamaño del meristemo apical en la planta deficiente en citoquinina. (Según Werner y col. 2001.)

y col. 1999). Es interesante destacar que la sobreexpresión de *KNAT1* parece aumentar también los niveles de citoquininas en el tabaco transgénico, sugiriendo que existe una relación interdependiente entre *KNAT* y el nivel de citoquininas.

La sobreexpresión de varios genes de la citoquinina oxidasa de *Arabidopsis* en tabaco da lugar a una reducción de los niveles de citoquininas endógenas y un consiguiente retraso del desarrollo del tallo, debido a la reducción de la velocidad de proliferación en el meristemo del ápice caulinar (Figuras 21.8 y 21.9) (Werner y col. 2001). Este descubrimiento apoya la idea de que las citoquininas endógenas regulan la división celular *in vivo*.

Es sorprendente que la sobreexpresión de la citoquinina oxidasa en tabaco da lugar a un *aumento* del crecimiento radicular (Figura 21.10), principalmente por un aumento del tamaño del meristemo del ápice radicular (Figura 21.11). Como la raíz es la principal fuente de citoquininas, este resultado indica que las citoquininas tienen funciones opuestas en la regulación de la proliferación celular en los meristemos radiculares y del tallo.

A partir de los análisis de las mutaciones en el receptor de la citoquinina (que será analizado más adelante en el capítulo) se han encontrado evidencias que relacionan las citoquininas con la regulación de la división celular *in vivo*. Las mutaciones en el receptor de la citoquinina inte-

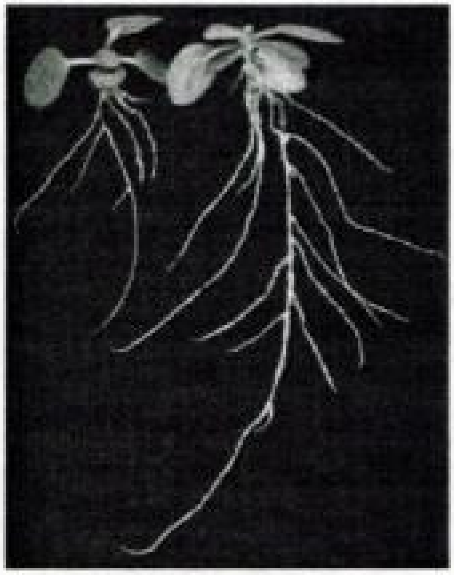


Figura 21.10 La citoquinina suprime el crecimiento de raíces. Las raíces AtCKX1 deficientes en citoquinina (derecha) son más largas que las de la planta silvestre de tabaco (izquierda). (Según Werner y col. 2001.)

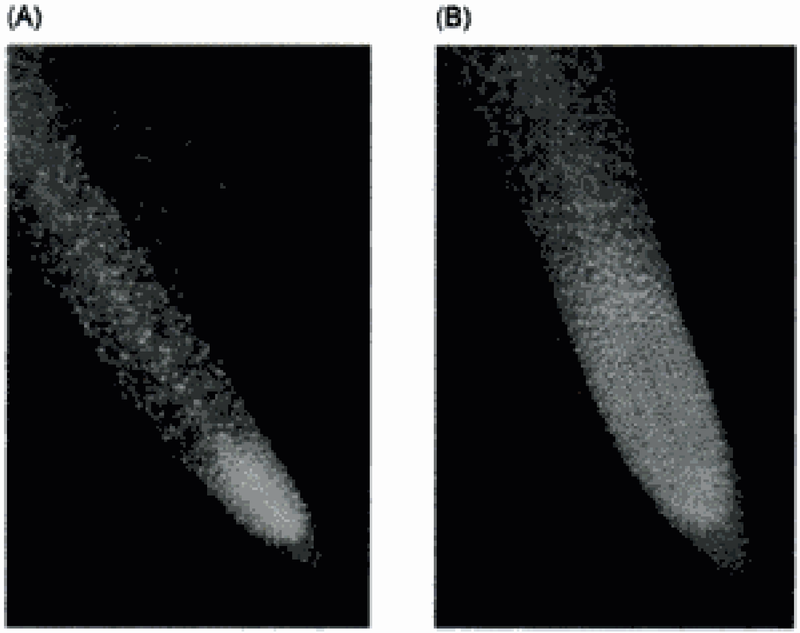


Figura 21.11 La citoquinina suprime el tamaño y la actividad de división celular de las raíces. (A) Tipo silvestre. (B) AtCKX1. Las raíces se tiñeron con el colorante fluorescente 4',6'-diamino-2-fenilindol, que tiñe el núcleo. (Según Werner y col. 2001.)

rrumpen el desarrollo de la vascularización radical. Los mutantes conocidos como *cre1* carecen de floema en sus raíces y el sistema vascular radical está formado únicamente por el xilema (véanse los capítulos 4 y 10).

Análisis posteriores han revelado que este defecto es debido a un número insuficiente de células madre vasculares. Es decir, en el momento de la diferenciación de las células madre entre células del floema y del xilema, en los mutantes *cre1*, el conjunto de las células madre es anormalmente pequeño, de modo que todas las células madre tienen como destino el xilema y no quedan células madre para formar el floema. Estos resultados indican que las citoquininas participan en la regulación de la proliferación de las células madre de la raíz.

Las citoquininas regulan componentes específicos del ciclo celular

Las citoquininas regulan la división celular al afectar a los puntos de control que regulan el paso de la célula a través del ciclo de división celular. Los niveles de zeatina alcanzan un máximo en las células de tabaco cultivadas al final de la fase S, la mitosis y la fase G.

Las citoquininas fueron descubiertas por su capacidad de estimular la división celular en los tejidos que tenían un nivel óptimo de auxinas. Las evidencias sugieren que las auxinas y las citoquininas participan en la regulación del ciclo celular y que

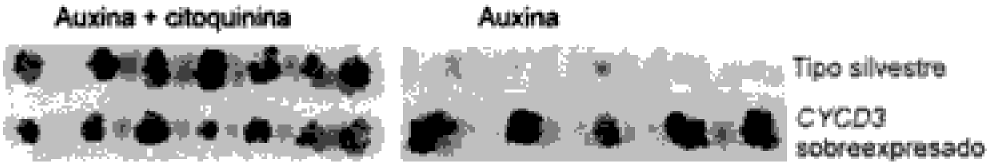


Figura 21.12 Células de callo que están expresando *CYCD3* pueden dividirse en ausencia de citoquinina. Explantos de hoja de plantas transgénicas de *Arabidopsis* que expresan *CYCD3* bajo el promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor fueron inducidos a formar callos a través de cultivos en presencia de auxina y citoquinina o auxina sola. Los callos control del tipo silvestre necesitaron citoquinina para crecer. Los callos que expresan *CYCD3* crecieron igual en un medio que sólo contenía auxina. Las fotografías fueron tomadas a los 29 días. (Según Riou-Khamlichi y col. 1999.)

lo hacen controlando la actividad de las ciclinas dependientes de quinasa. Como se analizó en el capítulo 1, las *proteína quinasas dependientes de ciclinas* (CDKs), en función de sus subunidades reguladoras, las *ciclinas*, son los enzimas que regulan el ciclo celular eucariótico.

La expresión del gen que codifica la principal CDK, Cdc2 (*c*iclo de *d*ivisión *c*elular 2), está regulada por auxinas (véase el capítulo 19). En tejidos de raíz de guisante, el RNAm de la Cdc2 era inducido 10 minutos después del tratamiento con las auxinas y en médula de tabaco se inducían igualmente niveles altos de CDK cuando el cultivo se realizaba en un medio que contenía auxinas (John y col. 1993). Sin embargo, la CDK inducida por auxinas es enzimáticamente inactiva y los altos niveles de CDK no son suficientes para permitir a las células dividirse.

Las citoquininas se han relacionado con la activación de una fosfatasa similar a la Cdc25, cuya función es eliminar el grupo fosfato de la Cdc2 quinasa (Zhang y col. 1996). Esta acción de las citoquininas proporciona una unión potencial entre la citoquinina y la auxina en la regulación del ciclo celular.

Recientemente, se ha encontrado un segundo punto de regulación del ciclo celular por citoquininas. Las citoquininas aumentan la expresión del gen *CYCD3*, que codifica una *ciclina tipo D* (Soni y col. 1995; Riou-Khamlichi y col. 1999). En células animales, las ciclinas tipo D están reguladas por una gran variedad de factores del crecimiento que tienen una función clave en el paso a través de los puntos de restricción del ciclo celular en G_1. Las ciclinas tipo D tienen así un papel clave en la regulación de la proliferación.

En *Arabidopsis*, el gen *CYCD3* se expresa en los tejidos en proliferación, como meristemos del brote y hojas jóvenes del primordio. En un experimento clave, se encontró que la sobreexpresión de *CYCD3* puede eliminar la necesidad de citoquininas para la proliferación celular del cultivo (Figura 21.12) (Riou-Khamlichi y col. 1999). Estos y otros resultados sugieren que el aumento de la función de *CYCD3* es un mecanismo importante para la capacidad de las citoquininas en la estimulación de la división celular.

La relación auxina/citoquinina regula la morfogénesis en cultivos de tejidos

Poco después del descubrimiento de la quinetina, se observó que los tejidos callosos procedentes de segmentos de la médula de tabaco pueden diferenciarse en raíces o brotes, dependiendo de la relación existente entre auxinas y citoquininas en el medio de cultivo. Mientras que relaciones altas de auxina/citoquinina estimulan la formación de raíces, valores bajos de la relación auxina/citoquinina dan lugar a la formación de tallos. A niveles intermedios el tejido crece como un callo indiferenciado (Figura 21.13) (Skoog y Miller 1965).

El efecto de la relación auxina/citoquinina en la regulación de la morfogénesis se puede ver en tejidos tumorales de corona por mutaciones del T-DNA del plásmido Ti de *Agrobacterium (Garfinkel y col. 1981). Las mutaciones en el gen ipt* (el locus *tmr)* del plásmido Ti bloquean la biosíntesis de zeatina en las células infectadas. Una alta relación auxina/citoquinina en las células tumorales provoca la proliferación de raíces en lugar de un tejido calloso indiferenciado. Por el contrario, las mutaciones en el gen de la biosíntesis de la auxina (en el locus *tms*) reducen la relación auxina/citoquinina y estimulan la proliferación de los tallos (Figura 21.14) (Akiyoshi y col. 1983). Estos tumores parcialmente diferenciados se denominan teratomas.

Las citoquininas modifican la dominancia apical y promueven el crecimiento lateral de la yema

Uno de los principales determinantes de la forma de la planta es la dominancia apical (véase el capítulo 19). Las plantas con una gran dominancia apical, como el maíz, tienen un único eje de crecimiento con unas pocas ramas laterales. Por el contrario, en plantas arbustivas inician su crecimiento muchas yemas laterales.

Aunque la dominancia apical puede estar determinada principalmente por las auxinas, los estudios fisiológicos indican que las citoquininas participan en el inicio del crecimiento de las yemas laterales. Por ejemplo, la aplicación directa de citoquininas a yemas axilares de muchas especies estimula su actividad de división celular y su crecimiento.

Los fenotipos de los mutantes con una sobreproducción de citoquininas están en consonancia con este resultado. Las plantas de tabaco tipo silvestre muestran una fuerte dominancia apical durante el desarrollo vegetativo y las yemas laterales sobreproductoras de citoquininas crecen vigorosamente, desarrollándose en tallos que compiten con el tallo principal. En consecuencia, las plantas con una sobreproducción de citoquininas tienden a ser arbustos.

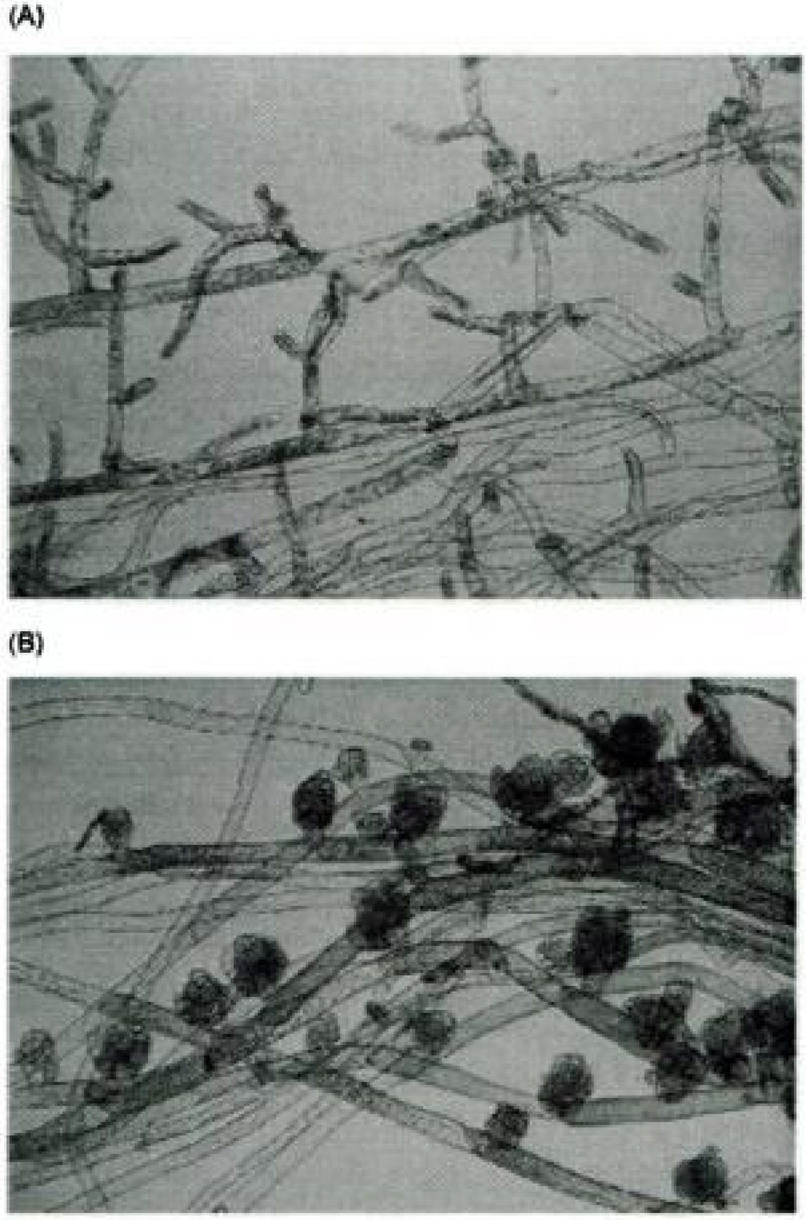


Figura 21.16 La citoquinina estimula el desarrollo de la yema en *Funaria*. (A) Filamentos protonémicos control. (B) Filamentos protonémicos tratados con benciladenina. (Cortesía de H. Kende.)

La sobreproducción de citoquinina se ha relacionado con los tumores genéticos

Muchas especies del género *Nicotiana* pueden cruzarse para obtener híbridos interespecíficos. Se han producido más de 300 de estos híbridos interespecíficos; el 90% de ellos son normales, mostrando características fenotípicas intermedias a las de sus padres. La planta usada para obtener tabaco, *Nicotiana tabacum*, por ejemplo, es un ejemplo de un híbrido interespecífico. Sin embargo, cerca de un 10% de estos cruces

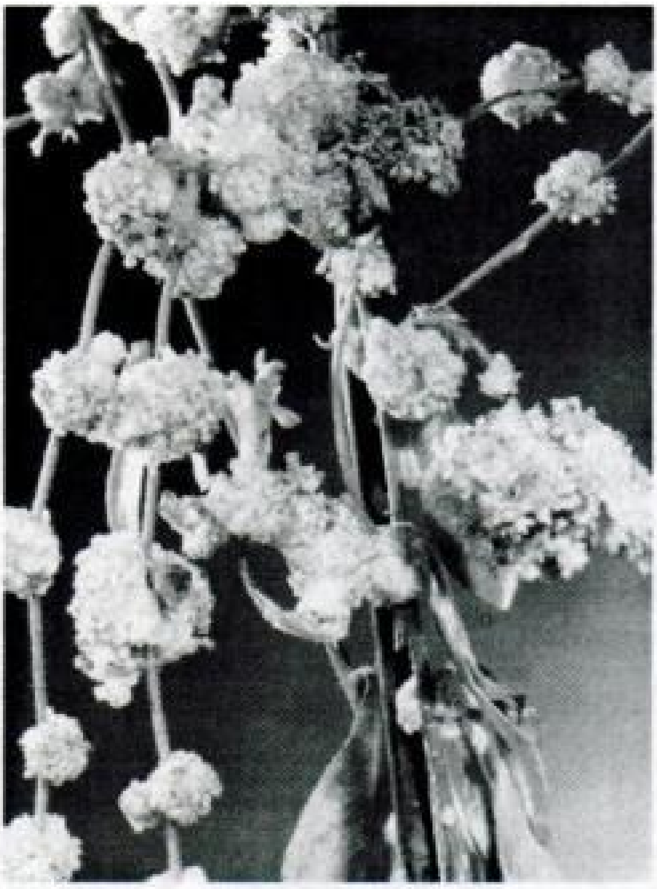


Figura 21.17 Expresión de tumores genéticos en el híbrido *Nicotiana langsdorffi* × *N. glauca*. (De Smith 1988.)

entre especies han dado una progenie que tiende a formar tumores espontáneos, llamados **tumores genéticos** (Figura 21.17) (Smith 1988).

Los tumores genéticos son similares a los tumores inducidos por *Agrobacterium tumefaciens*, analizados al principio de este capítulo, pero los tumores genéticos se forman espontáneamente en ausencia de cualquier agente inductor externo. Los tumores están compuestos por masas de células que proliferan rápidamente en regiones de la planta que normalmente contendrían pocas células en división. Además, las células se dividen sin diferenciarse en los tipos de células normales asociados a los tejidos, dando lugar al tumor.

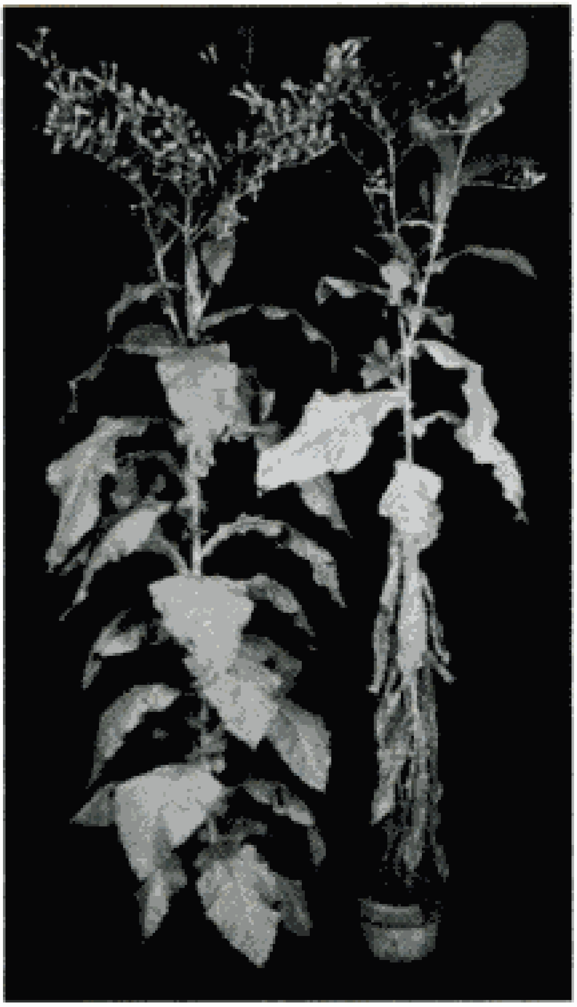
Los híbridos de *Nicotiana* que producen tumores genéticos tienen niveles anormalmente altos tanto de auxinas como de citoquininas. Normalmente, los niveles de citoquininas en los híbridos con tumores son de cinco a seis veces más altos que los que se encuentran en sus progenitores.

Las citoquininas retrasan la senescencia de las hojas

Las hojas separadas de la planta pierden lentamente clorofila, RNA, lípidos y proteínas, incluso si se mantienen húmedas y se les proporcionan minerales. Este proceso de envejecimiento programado que conduce a la muerte se denomina **senescencia** (véanse los capítulos 16 y 23). La hoja sufre la senescencia más rápidamente en oscuridad que en presencia de luz. En hojas aisladas de muchas especies es posible retrasar la senescencia tratándolas con citoquininas.

Aunque las citoquininas no previenen completamente la senescencia, pueden retrasarla de forma bastante importantes, sobre todo cuando las citoquininas se pulverizan directamente sobre la planta intacta. Si sólo se trata con citoquininas una parte de la hoja, ésta permanece verde, después de que otras hojas, con un desarrollo similar, tienen un color amarillento y han caído de la planta. Incluso un punto de la hoja puede permanecer verde si se la trata con una citoquinina, mientras los tejidos de alrededor de la misma hoja iniciarán la senescencia.

A diferencia de las hojas jóvenes, las hojas maduras producen pocas citoquininas. Las hojas maduras pueden depender de las citoquininas derivadas de la raíz para retrasar su senescencia. La senescencia en las hojas de soja se inicia con la maduración de la semilla (un fenómeno conocido como *senescencia monocárpica*) y puede retrasarse si se elimina la semilla. Aunque las vainas de las semillas controlan el inicio de la senescencia, lo hacen controlando la liberación de derivados de las citoquininas desde la raíz a las hojas.



Planta que expresa el gen ipt; se mantiene verde y fotosintética

Planta control de la misma edad; senescencia avanzada, no fotosíntesis

Figura 21.18 La senescencia de la hoja se retrasa en la planta transgénica que contiene un gen de la biosíntesis de citoquininas, *ipt*. El gen *ipt* se expresa en respuesta a las señales que inducen senescencia. (Según Gan y Amansino 1995, cortesía de R. Amansino.)

Las principales citoquininas que están implicadas en el retraso de la senescencia son el ribósido de zeatina y el ribósido de dihidrozeatina, que pueden ser transportados a las hojas desde las raíces a través del xilema, a través de la corriente de transpiración (Nooden y col. 1990).

Para comprobar el papel de las citoquininas en la regulación del inicio de la senescencia de la hoja, se transformaron plantas de tabaco con un gen quimérico en el midero. Como analizamos en el capítulo 10, los nutrientes son transportados por el floema desde el sitio de producción (la fuente) al sitio de utilización (el sumidero). Puede que, por el tratamiento con la hormona, se haya estimulado el metabolismo del área tratada, de manera que los nutrientes se muevan hacia ella. Sin embargo, no es necesario que el nutriente (en sí mismo) sea metabolizado en las células fuente, ya que las citoquininas también movilizan sustratos análogos no metabolizables (Figura 21.19).

Las citoquininas promueven el desarrollo de los cloroplastos

Aunque las semillas pueden germinar en la oscuridad, la morfología de las plántulas que han crecido en oscuridad es muy diferente de la de las plántulas que crecen con luz (véase el capítulo 17): las plántulas que crecen en oscuridad se denominan **etioladas**. El hipocotilo y los entrenudos de las plántulas etioladas son más largos, los cotiledones y las hojas no se expanden y los cloroplastos no maduran. A pesar que no maduran como cloroplastos, los proplastos de plántulas que han crecido en oscuridad generan **etioplastos**, que no sintetizan clorofila ni la mayoría de las proteínas estructurales necesarias para la formación del sistema tilacoidal de los cloroplastos ni de la maquinaria fotosintética. Cuando las plántulas germinan en presencia de luz,

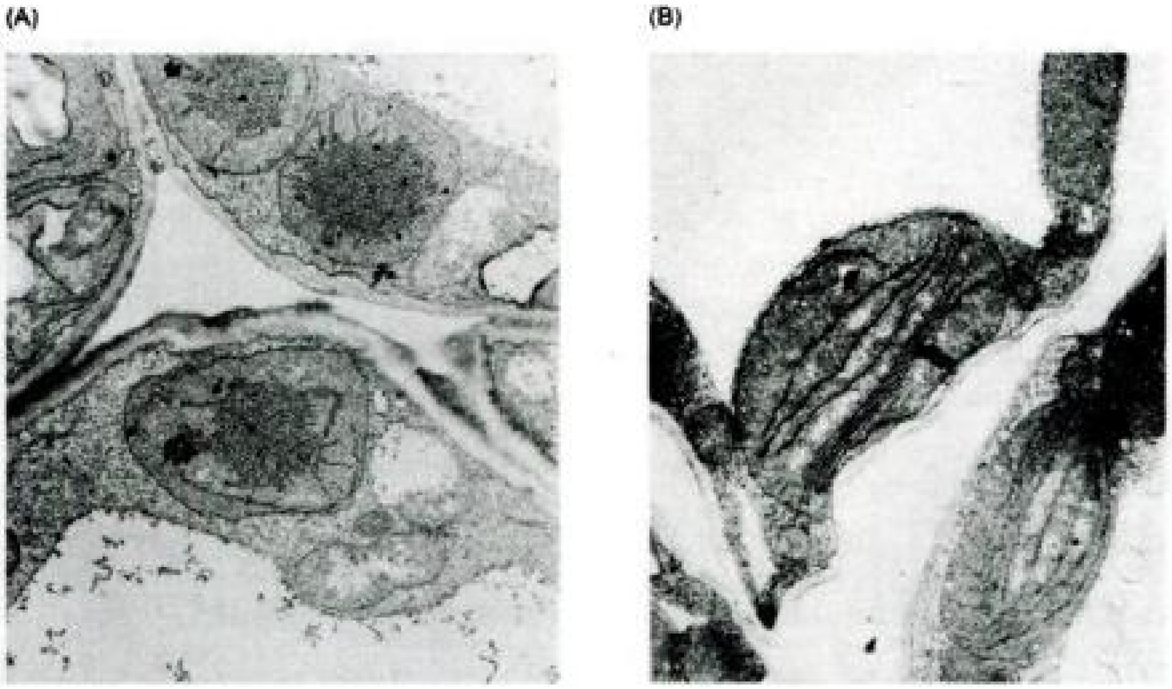


Figura 21.20 Influencia de la citoquinina en el desarrollo de plántulas silvestres de *Arabidopsis* que han crecido en oscuridad. (A) Plastos desarrollados como etioplastos en el control no tratado que han crecido en oscuridad. (B) El tratamiento con citoquinina dio lugar a la formación de tilacoides en los plastos de plántulas que han crecido en oscuridad. (Según Corrí y col. 1994, cortesía de J. Chory, © American Society of Plant Biologist, reimpresa con permiso.)

los cloroplastos maduran directamente desde los proplastos presentes en el embrión, pero los etioplastos también pueden madurar a cloroplastos cuando las plántulas etioladas se exponen a la luz.

Si las hojas etioladas se tratan con citoquininas antes de ser iluminadas, forman cloroplastos con un grana más extenso y la clorofila y los enzimas fotosintéticos se sintetizan a una velocidad más elevada al ser iluminadas (Figura 21.20). Estos resultados sugieren que las citoquininas, junto con otros factores, como la luz, la nutrición y el desarrollo, regulan la síntesis de las proteínas y pigmentos fotosintéticos. La capacidad de las citoquininas para aumentar la desetiolación de las plántulas que han crecido en oscuridad se mimetiza por ciertas mutaciones que dan lugar a una sobreproducción de citoquininas. (Para más detalles sobre cómo las citoquininas promueven el desarrollo mediado por la luz, véase el **tema web 21.7**.)

Las citoquininas promueven la expansión celular en hojas y cotiledones

La promoción de la elongación celular por citoquininas se observa mucho más claramente en los cotiledones de las dicotiledóneas con cotiledones carnosos, como en mostaza, pepino y girasol. Los cotiledones de estas especies se expanden durante el crecimiento de la plántula como consecuencia de la elongación celular. El tratamiento con citoquininas promueve una expansión celular adicional, ya que no aumenta el peso seco de los cotiledones tratados.

Los cotiledones carnosos se expanden mucho más cuando las plántulas crecen en presencia de luz (en lugar de hacerlo en oscuridad) y las citoquininas promueven el crecimiento de los cotiledones tanto en plántulas que han crecido presencia de la luz como en las que lo han hecho en oscuridad (Figura 21.21). Como en el crecimiento inducido por auxinas, el crecimiento promovido por citoquininas en cotiledones de rábano está asociado con un aumento de la extensibilidad mecánica de las paredes celulares. Sin embargo, la despolimerización inducida por las citoquininas no va acompañada de la salida de protones. Ni las auxinas ni las giberelinas promueven la expansión celular de los cotiledones.

Las citoquininas regulan el crecimiento de tallos y raíces

Aunque se necesitan las citoquininas endógenas para la proliferación normal de las células en el meristemo apical y, por tanto, para el crecimiento normal del tallo (véase la figura 21.9), la aplicación de citoquininas inhibe la elongación celular en tallos y raíces. Por ejemplo, cuando se añaden citoquininas exógenas se inhibe la elon-

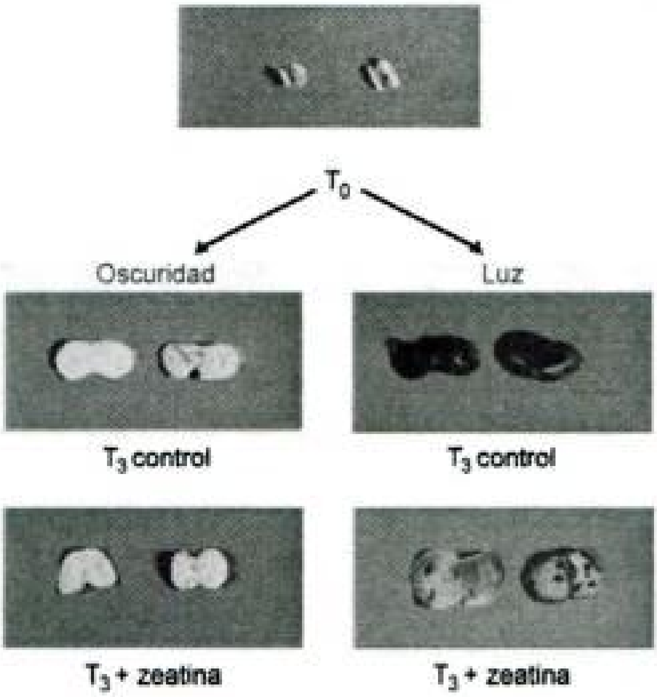


Figura 21.21 Efecto de las citoquininas en la expansión de los cotiledones de rábano. El experimento que se describe aquí muestra que los efectos de la luz y de la citoquinina son aditivos. T_0 representa plántulas germinantes de rábano antes de que se iniciara el experimento. Los dos cotiledones separados de las plántulas fueron incubados durante 3 días (T_3) con luz o sin ella y con o sin 2.5 mM de zeatina. En ambos casos los cotiledones que fueron tratados con zeatina se expandieron mucho más que los controles, ya estuvieran crecidos en oscuridad o con luz. (Según Huff y Ross 1975.)

gación del hipocotilo a concentraciones a las que se promovería la expansión del cotiledón en plántulas que han crecido en oscuridad.

En experimentos relacionados, se observó que, en plantas transgénicas que expresan el gen *ipt* y en mutantes con una sobreproducción de citoquininas, existía una inhibición de la elongación del entrenudo y la raíz. Es probable que la inhibición de la elongación del entrenudo y la raíz por un exceso de citoquininas sea debido a la producción de etileno y su inhibición puede representar otro ejemplo de la interdependencia que existe entre las rutas reguladoras hormonales (Cary y col. 1995; Vogel y col. 1998).

Por otro lado, otros experimentos sugieren que las citoquininas endógenas a concentraciones fisiológicas normales inhiben el crecimiento radicular. Por ejemplo, un alelo débil de un mutante del receptor de las citoquininas y un alelo de pérdida de función de un elemento de señalización de las citoquininas forman raíces más largas que los del tipo silvestre (Inoue y col. 2001; Sakai y col. 2001). Como comentamos anteriormente, las plantas de tabaco modificadas genéticamente para sobreexpresar la citoquinina oxidasa (y así tener niveles inferiores de citoquininas) también tienen raíces más largas que las correspondientes plantas del tipo silvestre (véase la figura 21.10) (Werner y col. 2001). Estos resultados sugieren que las citoquininas endógenas regulan negativamente la elongación de la raíz.

Los procesos regulados por citoquininas se han demostrado en plantas que producen citoquininas en exceso

En muchas especies se ha introducido el gen *ipt* del plásmido Ti de *Agrobacterium*, dando lugar a una sobreproducción de citoquininas. Las plantas transgénicas muestran anormalidades en su desarrollo y aportan mucha información acerca de la función biológica de las citoquininas.

Como comentamos anteriormente, los tejidos vegetales transformados con *Agrobacterium* que llevan el plásmido Ti proliferan como tumores como consecuencia de una sobreproducción de auxinas y citoquininas. Como ya hemos señalado, si se eliminan todos los otros genes del T-DNA y los tejidos vegetales son transformados con el T-DNA que contiene un gen que confiere resistencia a un determinado antibiótico y el gen *ipt*, proliferan tallos en lugar del callo.

Los teratomas del brote formados por los tejidos transformados con *ipt* tienen dificultades para enraizar y, cuando se forman las raíces, tienden a tener un crecimiento enano. Por ello, es difícil obtener plantas de tallos que expresan el gen *ipt* bajo el control de su propio promotor porque se trata de un promotor constitutivo y el gen se expresa continuamente.

Para solucionar este problema y dirigir la expresión del gen *ipt* en tejidos transformados, se han usado un gran número de promotores que pueden ser regulados. Por ejemplo, varios estudios han utilizado un promotor de choque térmico, que es inducido en respuesta a una temperatura elevada, para inducir la expresión del gen *ipt* en plantas transgénicas de tabaco y *Arabidopsis*. En estas plantas, la inducción por calor aumenta sustancialmente el nivel del ribósido y del ribótido de la zeatina y del N conjugado de la zeatina.

Las plantas que sobreexpresan citoquininas presentan varias características que indican las funciones que tienen en el desarrollo y fisiología vegetal:

- Los meristemos de los ápices caulinares de plantas que sobreproducen citoquininas generan más hojas.
- Las hojas tienen mayores niveles de clorofila y son mucho más verdes.
- Se pueden formar tallos adventicios a partir de nervios foliares no dañados y pecíolos.
- Se retrasa la senescencia de la hoja.
- La dominancia apical está fuertemente reducida.
- Las plantas con una mayor sobreproducción de citoquininas son enanas, con sus entrenudos muy reducidos.
- El enraizamiento de los tallos cortados está reducido, así como la velocidad del crecimiento radicular.

Algunas de las consecuencias de la sobreproducción de citoquininas podrían ser beneficiosas para la agricultura si la síntesis de la hormona pudiera controlarse. Como la senescencia de la hoja se retrasa en las plantas que sobreproducen citoquininas, sería posible aumentar su productividad fotosintética (que analizaremos brevemente).

Además, la producción de citoquininas podría estar relacionada con el daño provocado por depredadores. Por ejemplo, las plantas de tabaco transformadas con el gen inhibidor de la proteasa II son mucho más resistentes al daño por insectos. El gusano del tabaco consumió un 70% menos de las hojas de plantas de tabaco que expresaban el gen *ipt* dirigido por el promotor del inhibidor de la proteasa (Smigocki y col. 1993).

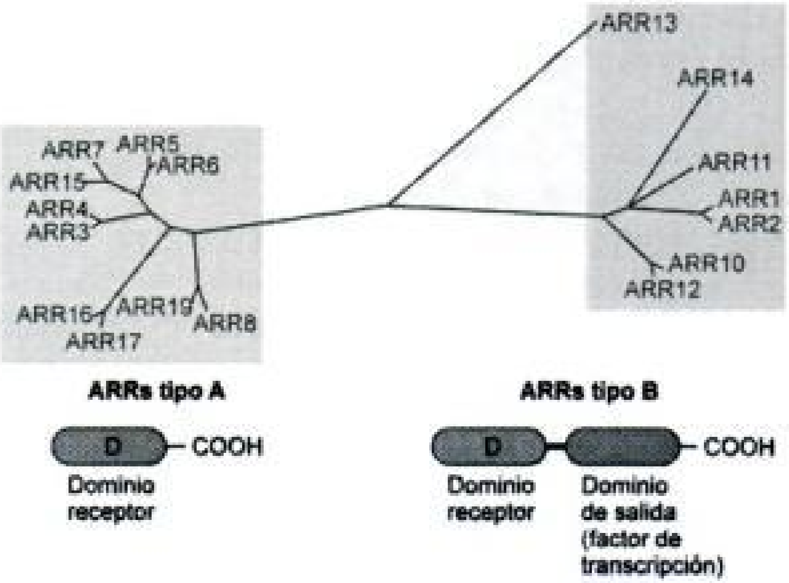
MECANISMOS CELULARES Y MOLECULARES DE LA ACCIÓN DE LAS CITOQUININAS

La diversidad de los efectos de las citoquininas sobre el crecimiento vegetal y el desarrollo parecen implicar rutas de transducción de señal con ramificaciones que dan lugar a respuestas específicas. Aunque nuestro conocimiento de cómo funcionan las citoquininas a nivel celular y molecular es todavía parcial, se están realizando importantes avances. En esta sección analizaremos la naturaleza del receptor de las citoquininas y de varios genes regulados por citoquininas, así como un modelo de señalización basado en la información actual disponible.

Se ha identificado un receptor de citoquininas relacionado con receptores bacterianos de dos componentes

La primera indicación sobre la naturaleza del receptor de la citoquinina vino del descubrimiento del gen *CKI1*. Este gen se identificó en la búsqueda de genes que, cuando se sobreexpresaran, dieran lugar a células cuyo crecimiento fuera independiente de citoquininas en cultivos de células de *Arabidopsis*. Como ya hemos analizado, las células vegetales normalmente necesitan las citoquininas para dividirse en cultivo. Sin embargo, se encontró una cepa capaz de crecer sin adicionar citoquininas al medio.

El gen *CKI1* codifica una proteína cuya secuencia es similar a la de un sensor bacteriano histidina quinasa de dos componentes, que son receptores ubicuos en los procariotas (véase el capítulo 14 en la página web y capítulo 17). Los sistemas reguladores bacterianos de dos componentes median una gran cantidad de respuestas a estímulos ambientales, como la osmorregulación y la quimiotaxis. Normalmente, estos sistemas están formados por dos elementos funcionales: un *sensor histidina quinasa*, al cual se une la señal, y una cadena *reguladora de la respuesta*, cuya actividad está re-


ARR13
ARR14
ARR11
ARR1
ARR2
ARR10
ARR12
ARR7
ARR5
ARR6
ARR15
ARR4
ARR3
ARR16
ARR19
ARR8
ARR17
ARRs tipo A
ARRs tipo B
D
COOH
Dominio receptor
D
COOH
Dominio receptor
Dominio de salida (factor de transcripción)

.**Figura 21.23** Árbol filogenético de reguladores de respuesta en *Arabidopsis*. La parte superior de la figura muestra un árbol filogenético que representa el grado de relación de los dominios receptores presentes en el genoma de *Arabidopsis*. Las dos proteínas más relacionadas están en el árbol, las más similares son las secuencias de aminoácidos. Nótese que esas proteínas se agrupan en dos clases diferentes, llamadas ARR tipo A (azul) y ARR tipo B (rojo) Esas diferencias en las secuencias también se reflejan en las diferentes estructuras de los dominios, como se señala debajo del árbol. Las ARR tipo A constan únicamente de un dominio receptor, pero las proteínas tipo B también contienen un dominio de salida en el extremo carboxilo. (Véase el esquema en color en el CD.)

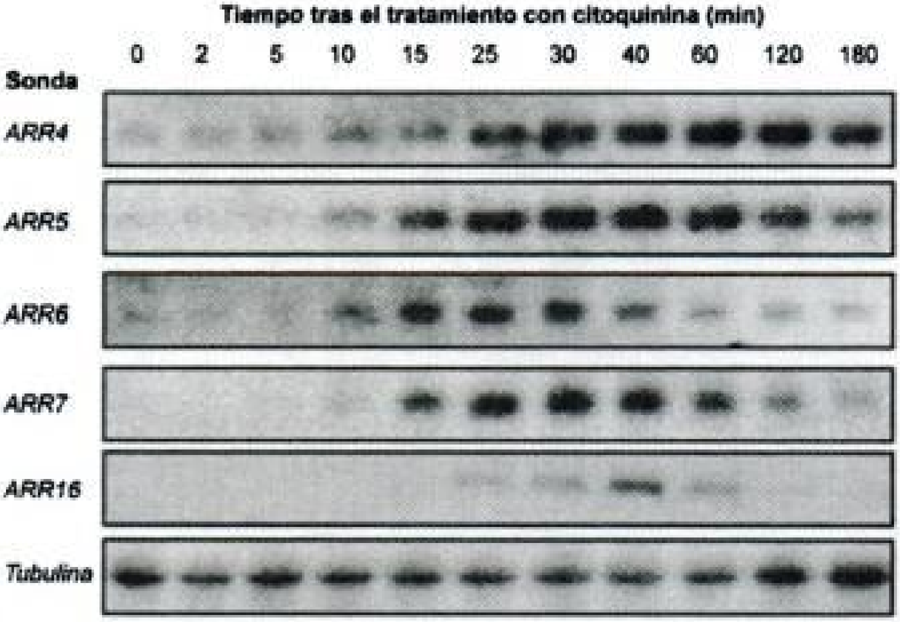


Figura 21.24 Inducción de genes ARR tipo A en respuesta a citoquininas. Se aislaron RNA de plántulas de *Arabidopsis* tratadas con citoquininas el tiempo indicado y se analizaron por northern. Cada línea muestra el resultado del northern con un gen individual de tipo A y cada línea contiene RNA derivado de plántulas de *Arabidopsis* tratadas al tiempo indicado con citoquinina. La banda más oscura corresponde el nivel más alto de RNAm de ARR en la muestra. (Según D'Agostino y col. 2000.)

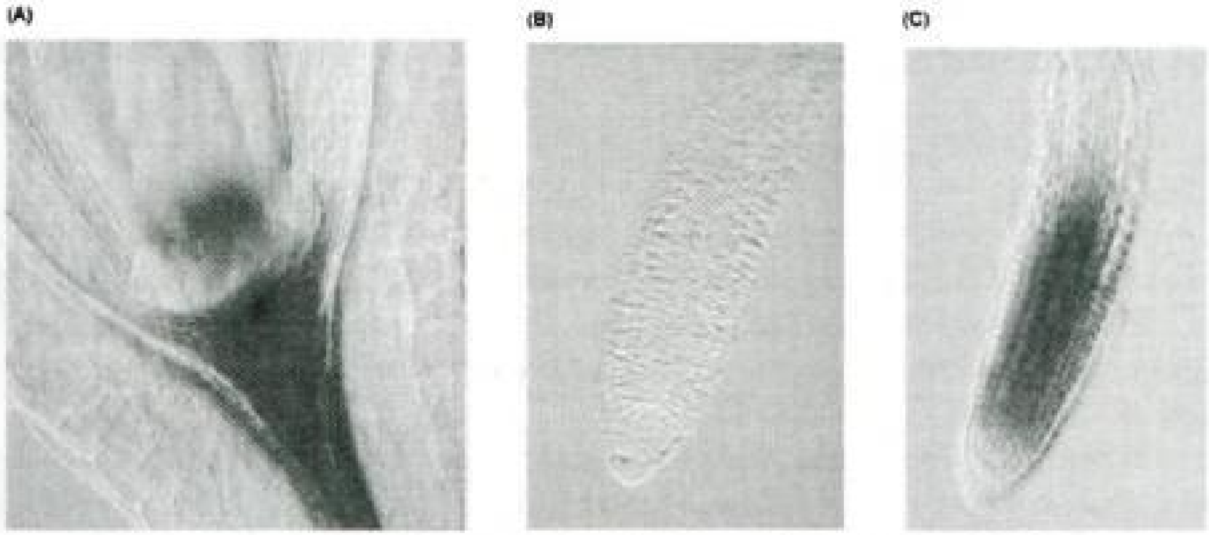


Figura 21.25 Expresión de ARR5. Se analizó el patrón de expresión de ARR5 por fusión del promotor al gen marcador GUS (A) o por su análisis por hibridación in situ (B y C). En este último caso, el tejido se hibridó con la cadena única del RNA ARR5 marcada tanto en la orientación sentido (B) como en antisentido (C). El RNA sentido es un control negativo y reveló el fondo de tinción no específico. La sonda antisentido hibrida específicamente con el RNAm ARR5 presente en el tejido, revelando con ello su distribución espacial. Con ambos métodos, la expresión de ARR5 se observa principalmente en los meristemos apicales. (Según D'Agostino y col. 2000.)

los 10 minutos de la aplicación de la citoquininas (Figura 21.24) (D'Agostino y col. 2000). Esta rápida inducción es específica de la citoquinina y no necesita la síntesis de ninguna proteína nueva. Ambas características son propias de los genes de respuesta primaria (analizados en los capítulos 17 y 19).

La rápida inducción de los genes tipo A junto con su similitud a los elementos de señalización predichos que tendrían que actuar corriente abajo del sensor histidina quinasa, sugiere que estos elementos actúan después de la familia del receptor *CRE1* para mediar en la respuesta a la citoquinina. Es interesante destacar que uno de estos genes tipo A, *ARR-5*, se expresa principalmente en los meristemos apicales de tallos y raíces (Figura 21.25), de acuerdo con una función reguladora en la proliferación celular, un aspecto clave de la acción de la citoquininas.

La expresión de una gran cantidad de genes se ve alterada en respuesta a las citoquininas, pero generalmente con cinéticas más lentas que las de los genes tipo A. Entre ellos están los genes que codifican la nitrato reductasa, los genes reguladores de la luz como *LHCB* y *SSU* y genes relacionados con la defensa como *PR1*, así como genes que codifican una extensina (proteína de la pared celular rica en hidroxiprolina), RNAr, citocromo P450 y la peroxidasa. Las citoquininas aumentan la expresión de estos genes de dos formas: por aumento de la velocidad de transcripción (como en el caso de los genes *ARR* tipo A) y/o por estabilización del RNA transcrito (por ejemplo, en el gen de la extensina).

fosfotransferasas que tienen como intermediario a la **proteína histidina fosfotransferasa (Hpt)**.

El fosfato es transferido primero desde el ATP a la histidina del dominio histidina quinasa y entonces transferido a un residuo de aspartato del receptor unido. Desde el residuo de aspartato, el grupo fosfato es transferido a la histidina de una proteína Hpt y finalmente al aspartato del dominio receptor del regulador de la respuesta (véase la figura 21.22). Esta fosforilación del dominio receptor del regulador de respuesta altera su actividad. Así, se propone que las proteínas Hpt median entre los sensores quinasa y los reguladores de respuesta.

En *Arabidopsis* hay 5 genes Hpt, llamados AHP. Se ha demostrado que las proteínas AHP están físicamente asociadas a los dominios receptores de las histidina quinasas, incluida CRE1, y se ha demostrado que otro subgrupo de AHP se transporta de forma transitoria desde el citoplasma al núcleo en respuesta a las citoquininas (Figura 21.26) (Hwang y Sheen 2001). Estos descubrimientos sugieren que las AHP son intermediarios corriente abajo de los receptores CRE1 activados y que estas proteínas transducen la señal de las citoquininas al núcleo.

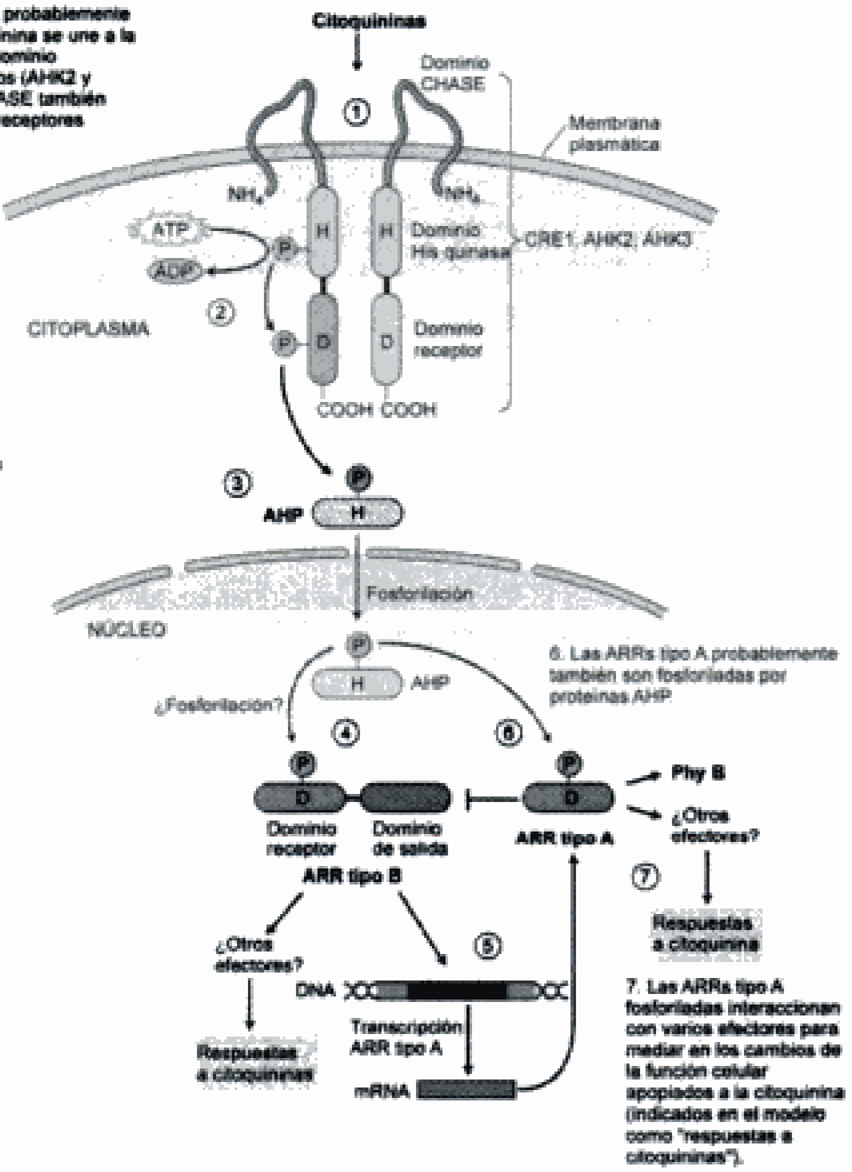
La fosforilación inducida por citoquininas activa factores de transcripción

La pregunta ahora es, ¿cómo actúan las AHP activadas, una vez en el núcleo, para regular la transcripción génica? Los estudios genéticos realizados en plantas enteras de *Arabidopsis* y los estudios de sobreexpresión en protoplastos de *Arabidopsis* usando un gen marcador de la respuesta a las citoquininas han aportado una probable respuesta (Hwang y Sheen 2001; Sakai y col. 2001).

La interrupción de *ARR1*, uno de los genes *ARR* tipo B, reduce la inducción de los genes *ARR* tipo A en respuesta a las citoquininas. Por el contrario, un aumento de la función de *ARR1* aumenta la respuesta de los genes tipo A a las citoquininas. Esto sugiere que *ARR1*, que es un factor de transcripción, regula directamente la transcripción de los *ARR* tipo A y por analogía, otros miembros de la familia *ARR* tipo B (véase la figura 21.23) también median en la expresión de genes regulados por citoquininas.

Esta conclusión está apoyada por los descubrimientos de que los genes *ARR* tipo B actúan como activadores transcripcionales y que hay múltiples sitios de unión para ARR1, un *ARR* tipo B, en las secuencias reguladoras del 5' DNA de los genes *ARR* tipo A.

En la figura 21.27 se muestra un modelo de la señalización de las citoquininas. Las citoquininas se unen al receptor CRE1 y se inicia una cascada de fosforilación que da lugar a la fosforilación y activación de un subgrupo de proteínas ARR tipo B. La activación de las proteínas tipo B (factores de transcripción) da lugar a la activación


Citoquininas
Dominio CHASE
①
Membrana plasmática
NH₂
NH₂
ATP
ADP
P
H
H
Dominio His quinasa
CRE1, AHK2, AHK3
②
CITOPLASMA
P
D
D
Dominio receptor
COOH COOH
③
P
AHP
H
Fosforilación
NÚCLEO
P
H
AHP
¿Fosforilación?
④
⑥
P
D
Dominio receptor
Dominio de salida
ARR tipo B
P
D
ARR tipo A
Phy B
¿Otros efectores?
⑦
Respuestas a citoquinina
¿Otros efectores?
⑤
DNA
Transcripción ARR tipo A
mRNA
Respuestas a citoquininas

1. La citoquinina se une a CRE1, que probablemente se encuentra como dímero. La citoquinina se une a la parte extracelular de CRE1 llamada dominio CHASE. Dos sensores quinasa híbridos (AHK2 y AHK3) que contienen un dominio CHASE también pueden actuar probablemente como receptores quinasa en *Arabidopsis*.

2. La unión de la citoquinina a estos receptores activa su actividad histidina quinasa. El fosfato es transferido a un residuo de aspartato (D) en los dominios receptores fusionados.

3. Entonces el fosfato es transferido a una histidina conservada presente en una proteína AHP.

4. La fosforilación hace que la proteína AHP se mueva hacia el núcleo, donde transfiere el fosfato a un residuo de aspartato localizado en el dominio receptor de un ARR tipo B.

5. La fosforilación del AAR tipo B activa el dominio de salida e induce la transcripción de genes que codifican ARRs tipo A.

6. Las ARRs tipo A probablemente también son fosforiladas por proteínas AHP.

7. Las ARRs tipo A fosforiladas interaccionan con varios efectores para mediar en los cambios de la función celular apoyados a la citoquinina (indicados en el modelo como "respuestas a citoquininas").

Figura 21.27 Modelo de la señalización de citoquininas. Es de esperar que en un futuro cercano se pueda refinar significativo este modelo, ya que las herramientas disponibles actualmente permiten analizar las interacciones entre estos elementos.

transcripcional de los genes tipo A. Las proteínas ARR tipo A probablemente son fosforiladas en respuesta a las citoquininas y quizás, junto con las proteínas tipo B, actúan como dianas para mediar en los cambios en la función celular, como la activación del ciclo celular. Las ARR tipo A también son capaces de inhibir su propia expresión por un mecanismo desconocido que proporciona un bucle de retroalimentación negativa (véase la figura 21.27). Se necesitan realizar muchas más investigaciones para confirmar y refinar este modelo, pero se están empezando a vislumbrar el principio de las bases moleculares de la acción de las citoquininas en plantas.

RESUMEN

Las células vegetales maduras generalmente no se dividen en la planta entera, pero pueden ser inducidas a dividirse por una herida, una infección por ciertas bacterias y con hormonas vegetales, incluidas las citoquininas. Las citoquininas son aminopurinas N^6 sustituidas que inician la proliferación celular en muchas células vegetales cuando son cultivadas en un medio que contiene una auxina. La principal citoquinina de las plantas superiores, la zeatina o trans-6-(4-hidroxi-3-metilbut-2-enilamino)purina, está también presente en las plantas como ribósido o ribótido y como glucósido. Estas formas suelen ser activas como citoquininas en bioensayos por su conversión enzimática a la zeatina libre en los tejidos vegetales.

La primera etapa de la biosíntesis de las citoquininas (la transferencia de un grupo isopentenilo desde el DMAPP al nitrógeno 6 de la adenosina tri- y difosfato) está catalizada por la isopenteniltransferasa (IPT). El producto de esta reacción se convierte rápidamente en zeatina y otras citoquininas. Las citoquininas son sintetizadas en raíces, en embriones en desarrollo, en hojas jóvenes, en frutos y en los tejidos tumorales de corona. Las citoquininas también son sintetizadas por bacterias asociadas a plantas, insectos y nemátodos.

Las citoquininas oxidasas degradan irreversiblemente la citoquinina y pueden participar en la regulación de los niveles de esta hormona. La conjugación de la cadena lateral y de la adenosina con azúcares (principalmente glucosa) también puede tener una función en la regulación de los niveles de citoquininas y puede ser la diana de otras hormonas con diferentes funciones, como el transporte. Las citoquininas también sufren interconversiones entre las formas de base libre y nucleósido y nucleótido.

Los tumores de corona se originan en los tejidos vegetales que han sido infectados con *Agrobacterium tumefaciens*. La bacteria inyecta una región específica del plásmido Ti, llamada T-DNA, en las células vegetales heridas, y el T-DNA se incorpora en el genoma nuclear de la célula huésped. El T-DNA contiene un gen para la biosíntesis de citoquininas, así como para la biosíntesis de auxinas. Estos fitooncogenes se expresan en las células vegetales, conduciendo a la síntesis hormonal y a la proliferación no regulada de las células que acaban formando el tumor.

Las citoquininas se concentran en las células jóvenes que se dividen rápidamente, las de los meristemos apicales de los tallos y las raíces. No parecen ser transportadas activamente a través de los tejidos vegetales vivos. Son transportadas pasivamente desde la raíz al tallo, a través del xilema, junto con el agua y los minerales. Al menos en guisantes, el tallo puede regular el flujo de citoquininas desde la raíz.

Las citoquininas participan en la regulación de muchos procesos en las células como la división celular, la morfogénesis de tallos y raíces, la maduración de los cloroplastos, la elongación celular y la senescencia. Tanto las citoquininas como las auxinas regulan el ciclo celular vegetal y ambas son necesarias para la división celular. Las funciones de las citoquininas se han descubierto por aplicación exógena de citoquininas, por el fenotipo de plantas transgénicas diseñadas para sobreexpresar las citoquininas como resultado de la introducción del gen bacteriano *ipt* y, recientemente, por las plantas transgénicas que tienen reducido el contenido de citoquininas como consecuencia de una sobreexpresión de la citoquinina oxidasa.

Además de la división celular, la relación auxina/citoquinina determina la diferenciación de los tejidos vegetales cultivados bien en raíces o en yemas: altas relaciones promueven raíces; bajas relaciones promueven tallos. Las citoquininas también han sido implicadas en la liberación de la dominancia apical de yemas axilares. En el moho *Funaria*, las citoquininas aumentan notablemente el número de «yemas», las estructuras que dan lugar a la fase gametofito carnoso del desarrollo.

El mecanismo de acción de las citoquininas está empezando a descubrirse ahora. Se ha identificado un receptor de citoquininas en *Arabidopsis*. Esta proteína transmembrana está relacionada con un sensor bacteriano histidina quinasa de dos componentes. Las citoquininas aumentan la abundancia de varios RNAm específicos. Algunos de estos son similares a genes de respuesta primaria que son similares a los reguladores de respuesta bacterianos de dos componentes. El mecanismo de transducción de la señal desde CRE1 a la activación de los *ARR* tipo A implica otros elementos homólogos a los elementos de dos componentes.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

21.1 Los cultivos celulares pueden adquirir la capacidad de sintetizar citoquininas

Se describe el fenómeno de la habituación, por el cual los tejidos callosos pueden llegar a ser independientes de las citoquininas.

21.2 Estructuras de algunas citoquininas naturales

Se presentan varias estructuras de citoquininas que se producen naturalmente.

21.3 Se usan varios métodos para detectar e identificar citoquininas

Las citoquininas pueden ser cuantificadas usando métodos inmunológicos y físicos muy sensibles.

21.4 Las citoquininas también están presentes en algunos RNAt de células animales y vegetales

Las adenosinas modificadas cerca del extremo 3' de los anticodones de algunos RNAt tienen actividad citoquinina.

21.5 El plásmido Ti y la ingeniería genética

Se describen las aplicaciones del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* en la ingeniería genética.

21.6 El árbol filogenético de los genes *IPT*

Arabidopsis contiene nueve genes IPT diferentes, varios de los cuales forman un grupo distinto con otras secuencias vegetales

21.7 Las citoquininas promueven el desarrollo mediado por la luz

Las citoquininas pueden tener un efecto mimético de la mutación *det* sobre el desarrollo de los cloroplastos y la desetiolación.

ENSAYOS WEB

21.1 La forma y estructura inducida por las citoquininas en mohos

Se describen los efectos de las citoquininas sobre el desarrollo de los protonemas de mohos.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Akiyoshi D. E., Klee H., Amasino R. M., Nester E. W. y Gordon M. P. (1984) T-DNA of *Agrobacterium tumefaciens* encodes an enzyme of cytokinin biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 5994–5998.

Akiyoshi D. E., Morris R. O., Hinz R., Mischke B. S., Kosuge T., Garfinkel D. J., Gordon M. P. y Nester E. W. (1983) Cytokinin/auxin balance in crown gall tumors is regulated by specific loci in the T-DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 407–411.

Akiyoshi D. E., Regier D. A. y Gordon M. P. (1987) Cytokinin production by *Agrobacterium* and *Pseudomonas* spp. *J. Bacteriol.* 169: 4242–4248.

Aloni R., Wolf A., Feigenbaum P. Avni A. y Klee H. J. (1998) The Never ripe mutant provides evidence that tumor-induced ethylene controls the morphogenesis of *Agrobacterium tumefaciens*-induced crown galls in tomato stems. *Plant Physiol.* 117: 841–849.

Barry G. F., Rogers R. G., Fraley R. T. y Brand L. (1984) Identification of cloned biosynthesis gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81: 4776–4780.

Beveridge C. A., Murfet I. C., Kerhoas L., Sotta B., Miginiac E. y Rameau C. (1997) The shoot controls zeatin riboside export from pea roots. Evidence from the branching mutant *rms4*. *Plant J.* 11: 339–345.

Bomhoff G., Klapwijk P. M., Kester H. C. M. y Schilperoort R. A. (1976) Octopine and nopaline synthesis and breakdown genetically controlled by plasmid of *Agrobacterium tumefaciens*. *Mol. Gen. Genet.* 145: 177–181.

Braun A. C. (1958) A physiological basis for autonomous growth of the crown-gall tumor cell. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 44: 344–349.

Brzobohaty B., Moore I., Kristoffersen P., Bako L., Campos N., Schell J. y Palme K. (1993) Release of active cytokinin by a b-glucosidase localized to the maize root meristem. *Science* 262: 1051–1054.

Caplin S. M. y Steward F. C. (1948) Effect of coconut milk on the growth of the explants from carrot root. *Science* 108: 655–657.

Cary A. J., Liu W. y Howell S. H. (1995) Cytokinin action is coupled to ethylene in its effects on the inhibition of root and hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Physiol.* 107: 1075–1082.

Chilton M.-D. (1983) A vector for introducing new genes into plants. *Sci. Am.* 248(00): 50–59.

Chilton M.-D., Drummond M. H., Merlo D. J., Sciaky D., Montoya A. L., Gordon M. P. y Nester E. W. (1977) Stable incorporation of plasmid DNA into higher plant cells: The molecular basis of crown gall tumorigenesis. *Cell* 11: 263–271.

Chory J., Reinecke D., Sim S., Washburn T. y Brenner M. (1994) A role for cytokinins in de-etiolation in *Arabidopsis*. *Det* mutants have an altered response to cytokinins. *Plant Physiol.* 104: 339–347.

D'Agostino I. B., Deruère J. y Kieber J. J. (2000) Characterization of the response of the *Arabidopsis ARR* gene family to cytokinin. *Plant Physiol.* 124: 1706–1717.

Elzen G. W. (1983) Cytokinins and insect galls. *Comp. Biochem. Physiol.* 76A(1): 17–19.

Estruch J. J., Chriqui D., Grossmann K., Schell J. y Spena A. (1991) The plant oncogene *RolC* is responsible for the release of cytokinins from glucoside conjugates. *EMBO J.* 10: 2889–2895.

Faiss M., Zalubìová, J., Strnad M. y Schmülling T. (1997) Conditional transgenic expression of the *ipt* gene indicates a function for cytokinins in paracrine signaling in whole tobacco plants. *Plant J.* 12: 410–415.

Gan S. y Amasino R. M. (1995) Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. *Science* 270: 1986–1988.

Garfinkel D. J., Simpson R. B., Ream L. W., White F. F., Gordon M. P. y Nester E. W. (1981) Genetic analysis of crown gall: Fine structure map of the T-DNA by site-directed mutagenesis. *Cell* 27: 143–153.

Hamilton J. L. y Lowe R. H. (1972) False broomrape: A physiological disorder caused by growth-regulator imbalance. *Plant Physiol.* 50: 303–304.

Houba-Herin N., Pethe C., d'Alayer J. y Laloue M. (1999) Cytokinin oxidase from *Zea mays*: Purification cDNA cloning and expression in moss protoplasts. *Plant J.* 17: 615–626.

Huff A. K. y Ross C. W. (1975) Promotion of radish cotyledon enlargement and reducing sugar content by zeatin and red light. *Plant Physiol.* 56: 429–433.

Samuelson M. E., Eliasson L. y Larsson C. M. (1992) Nitrate-regulated growth and cytokinin responses in seminal roots of barley. *Plant Physiol*. 98: 309–315.

Skoog F. y Miller C. O. (1965) Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. En *Molecular and Cellular Aspects of Development*, E. Bell, ed., Harper and Row, New York, págs. 481–494.

Smigocki A., Neal J. W., Jr., McCanna I. y Douglass L. (1993) Cytokinin-mediated insect resistance in *Nicotiana* plants transformed with the *ipt* gene. *Plant Mol. Biol.* 23: 325–335.

Smith H. H. (1988) The inheritance of genetic tumors in *Nicotiana* hybrids. *J. Hered.* 79: 277–284.

Soni R., Carmichael J. P., Shah Z. H. y Murray J. A. H. (1995) A family of cyclin D homologs from plants differentially controlled by growth regulators and containing the conserved retinoblastoma protein interaction motif. *Plant Cell* 7: 85–103.

Takei K., Sakakibara H. y Sugiyama T. (2001) Identification of genes encoding adenylate isopentyltransferase, a cytokinin biosynthetic enzyme, in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 276: 26405–26410.

Takei K., Sakakibara H., Taniguchi M. y Sugiyama T. (2001) Nitrogen-dependent accumulation of cytokinins in roots and the translocation to leaf: Implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulator. *Plant Cell Physiol*. 42: 85–93.

Vogel J. P., Woeste K., Theologis A. y Kieber J. J. (1998) Recessive and dominant mutations in the ethylene biosynthetic gene AC55 of *Arabidopsis* confer cytokinin-insensitivity and ethylene overproduction respectively. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 4766–4771.

Werner T., Motyka V., Strnad M. y Schmülling T. (2001) Regulation of plant growth by cytokinin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 10487–10492.

White P. R. (1934) Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium. *Plant Physiol.* 9: 585–600.

Yamada H., Suzuki T., Terada K., Takei K., Ishikawa K., Miwa K., Yamashino T. y Mizuno T. (2001). The *Arabidopsis* AHK4 histidine kinase is a cytokinin-binding receptor that transduces cytokinin signals across the membrane. *Plant Cell Physiol*. 42: 1017–1023.

Zhang K., Letham D. S. y John P. C. L. (1996) Cytokinin controls the cell cycle at mitosis by stimulating the tyrosine dephosphorylation and activation of p34cdc2-like H1 histone kinase. *Planta* 200: 2–12.

Capítulo 22

ETILENO: LA HORMONA GASEOSA

DURANTE EL SIGLO DIECINUEVE, cuando aún se usaba el gas de hulla para la iluminación de las calles, se observó que los árboles que se encontraban en las proximidades de las lámparas de la calle se desfoliaban más extensamente que otros árboles. Finalmente se hizo evidente que el gas de hulla y los contaminantes del aire afectaban al crecimiento y desarrollo vegetal y se identificó el etileno como el componente activo de este gas.

En 1901, Dimitry N. Neljubov, un estudiante graduado del Instituto de Botánica de San Petesburgo en Rusia, observó que las plántulas de guisante que habián crecido en oscuridad en el laboratorio, mostraban síntomas que más tarde se denominaron *la triple respuesta*: una elongación reducida del tallo, un aumento del crecimiento lateral (protuberancia) y un crecimiento horizontal anormal (gravitropismo negativo). Cuando las plantas crecían en aire fresco, recuperaban su morfología y su tasa normal de crecimiento. Neljubov identificó al etileno, que estaba presente en el aire del laboratorio, procedente de la hulla, como la molécula responsable de la respuesta.

H. H. Cousins en 1910 aportó la primera evidencia de que el etileno era un producto natural de los tejidos vegetales. Cousins publicó que «las emanaciones» de las naranjas almacenadas en cámaras provocaban una maduración prematura de los plátanos cuando estos gases llegaban a la cámara donde se encontraba dicho fruto. Sin embargo, dado que las naranjas sintetizan relativamente poco etileno comparado con otros frutos como las manzanas, es probable que las naranjas usadas por Cousins estuvieran infectadas por *Penicillium*, que produce una cantidad abundante de etileno. En 1934, Gane y otros investigadores identificaron químicamente el etileno como un producto natural del metabolismo vegetal y, debido a sus efectos sobre las plantas, se le consideró como una hormona.

Durante 25 años el etileno no fue reconocido como una hormona vegetal importante, debido sobre todo a que los fisiólogos creían que los efectos del etileno eran debidos a la auxina, la primera hormona descubierta (véase el capítulo 19). Se creía que la auxina era la principal hormona vegetal y el etileno tenía un papel fisiológico indirecto e insignificante. Los trabajos con el etileno se vieron interrumpidos por falta de técnicas químicas para su cuantificación. Sin embargo, después de la introducción de la cromatografía de gases en la investigación del etileno en 1959, la importancia del etileno fue redescubierta y se le reconoció un papel fisiológico significativo como regulador del crecimiento vegetal (Burg y Thimann 1959).

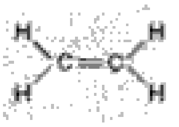
ESTRUCTURA, BIOSÍNTESIS Y CUANTIFICACIÓN DEL ETILENO

El etileno puede ser producido por todas las partes de las plantas superiores, aunque la tasa de producción depende del tejido y del estado de desarrollo. En general, las regiones meristemáticas y las regiones nodales son las más activas en la biosíntesis del etileno. Sin embargo, la producción del etileno aumenta durante la abscisión de la hoja y la senescencia floral, así como durante la maduración del fruto. Cualquier tipo de herida puede inducir la biosíntesis del etileno, así como cualquier estrés por encharcamiento, congelación, infección y calor o estrés hídrico.

El aminoácido metionina es el precursor del etileno y el ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico) actúa como intermediario en la conversión de metionina a etileno. Como veremos, la ruta completa es un ciclo que se encuentra integrado entre los muchos ciclos metabólicos que actúan en las células vegetales.

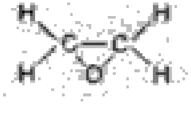
Las propiedades del etileno son extremadamente simples

El etileno es la olefina más simple conocida (su masa molecular es de 28) y es más ligera que el aire en condiciones fisiológicas.



Etileno

Es inflamable y se oxida rápidamente. El etileno puede oxidarse a óxido de etileno,



Óxido de etileno

Las hojas jóvenes en desarrollo producen más etileno que las hojas totalmente desarrolladas. En judía (*Phaseolus vulgaris*), las hojas jóvenes producen 0,4 nL g^{-1} h^{-1}, comparado con los 0,04 nL g^{-1} h^{-1} que se producen en las hojas viejas. Con muy pocas excepciones, en los tejidos no senescentes, las heridas o lesiones mecánicas aumentan la producción de etileno tras unos 30 minutos. Posteriormente los niveles de etileno vuelven a la normalidad.

Las gimnospermas y las plantas inferiores, incluidos helechos, musgos, hepáticas y cierta clase de cianobacterias, son capaces de sintetizar etileno. La producción de etileno por hongos y bacterias contribuye apreciablemente al contenido de etileno del suelo. Ciertas cepas de la bacteria común *Escherichia coli* y de levaduras (un hongo) producen grandes cantidades de etileno a partir de la metionina.

No existe ninguna evidencia de que los tejidos sanos de mamíferos produzcan etileno ni parece ser un producto metabólico de invertebrados. Sin embargo, recientemente se ha encontrado que una esponja marina y cultivos de células de mamíferos pueden responder al etileno, sugiriendo la posibilidad de que la molécula gaseosa actúe como molécula de señalización en células animales (Perovic y col. 2001).

La biosíntesis regulada determina la actividad fisiológica del etileno

En experimentos *in vivo* se ha demostrado que varios tejidos vegetales pueden convertir la 1-[^{14}C]metionina a [^{14}C]etileno y que el etileno deriva de los carbonos 3 y 4 de la metionina (Figura 22.1). El grupo CH_3-S de la metionina es reciclado a través del ciclo de Yang. Sin este reciclaje, la cantidad de azufre reducido presente limitaría la metionina disponible y la síntesis de etileno. La S-adenosilmetionina (SAM), que se sintetiza a partir de metionina y ATP, es un intermediario de la ruta de biosíntesis del etileno y el precursor inmediato del etileno es el **ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC)** (véase la figura 22.1).

El papel del ACC se hizo evidente en experimentos en los que se trataron plantas con metionina marcada con ^{14}C. En condiciones anaeróbicas, no se produce etileno a partir de la metionina marcada con ^{14}C, y en el tejido se acumulaba el ACC marcado. No obstante, al ser expuestos a oxígeno se produce etileno. EL ACC marcado era convertido rápidamente a etileno por varios tejidos vegetales, sugiriendo que el ACC es el intermediario precursor del etileno en las plantas superiores y que se necesita oxígeno para la conversión.

En general, cuando se aporta ACC exógenamente a los tejidos vegetales se produce un aumento notable de la producción de etileno. Esta observación indica que la síntesis de ACC es el paso metabólico limitante de la producción de etileno en los tejidos vegetales.

La **ACC sintasa**, el enzima que cataliza la conversión de SAM a ACC, (véase la figura 22.1) se ha caracterizado en muchos tipos de tejidos de diferentes plantas. La

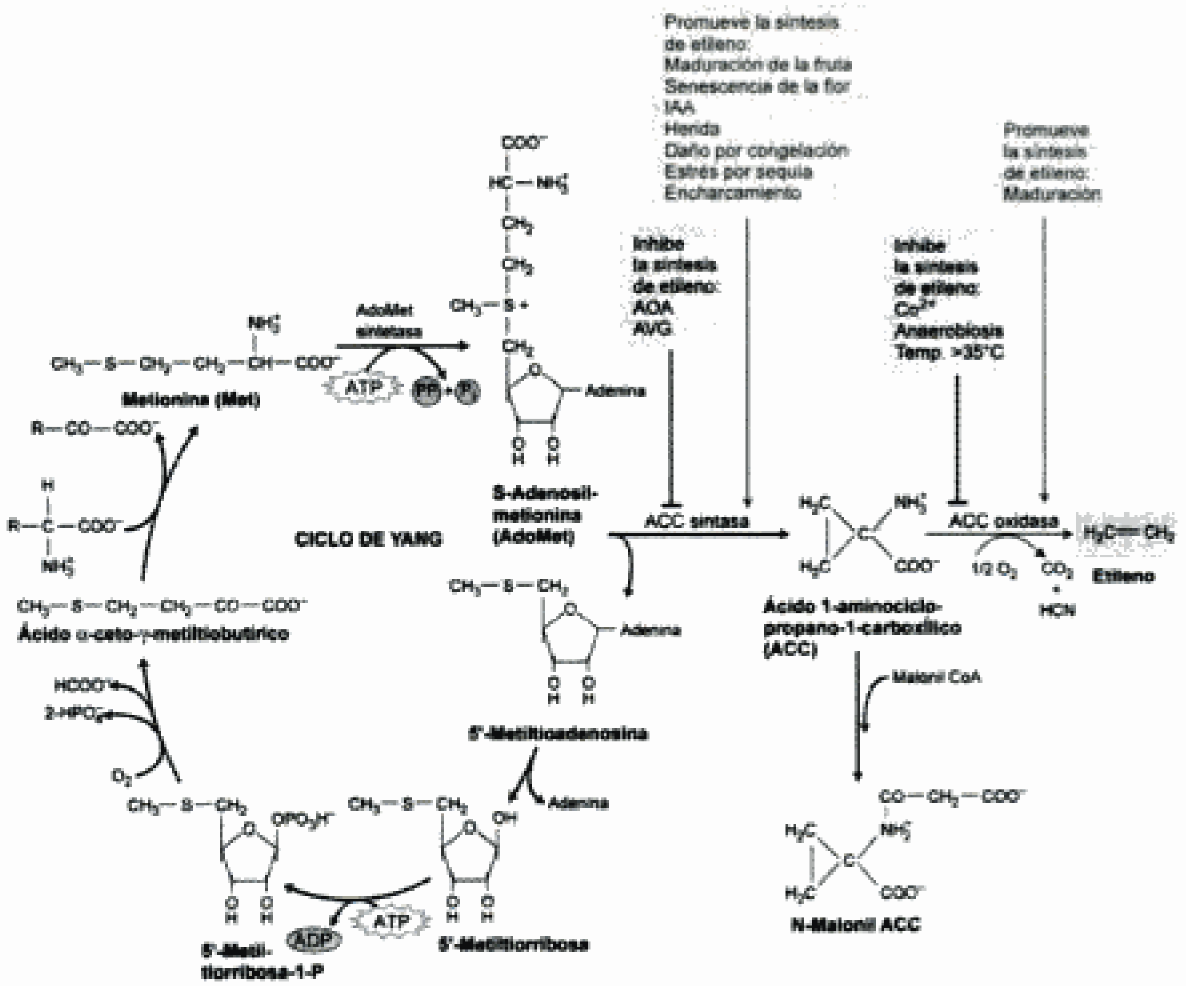

Promueve la síntesis
de etileno:
Maduración de la fruta
Senescencia de la flor
IAA
Herida
Daño por congelación
Estrés por sequía
Encharcamiento
Promueve
la síntesis
de etileno:
Maduración
Inhibe
la síntesis
de etileno:
AOA
AVG
Inhibe
la síntesis
de etileno:
Co2+
Anaerobiosis
Temp. >35°C
AdoMet
sintetasa
ATP
PPi + Pi
Metionina (Met)
S-Adenosil-
metionina
(AdoMet)
Adenina
ACC sintasa
ACC oxidasa
1/2 O2
CO2
+
HCN
H2C=CH2
Etileno
Ácido 1-aminociclo-
propano-1-carboxílico
(ACC)
Malonil CoA
N-Malonil ACC
CICLO DE YANG
Ácido α-ceto-γ-metiltiobutírico
HCOO⁻
2-HPO4
O2
5'-Metiltioadenosina
5'-Metiltiorribosa
5'-Metil-
tiorribosa-1-P
ADP
ATP

Figura 22.1 La ruta biosintética del etileno y el ciclo de Yang. El aminoácido metionina es el precursor del etileno. El paso limitante de la ruta es la conversión de SAM a ACC, que está catalizada por el enzima ACC sintasa. La última etapa de la ruta, la conversión de ACC a etileno, necesita oxígeno y está catalizada por el enzima ACC oxidasa. El grupo CH_3-S de la metionina es reciclado a través del ciclo de Yang y así se conserva para la síntesis continuada. Además de su conversión a etileno, el ACC puede también conjugarse para formar el N-malonil ACC. AOA, ácido aminooxiacético; AVG, aminoetoxivinilglicina. (Según McKeon y col. 1995.)

ACC sintasa es un enzima citosólico muy inestable. Su nivel está regulado por factores ambientales y por factores internos, como la herida, el estrés hídrico, la inundación y las auxinas. Dado que la ACC sintasa está presente en los tejidos vegetales a niveles muy bajos (0,0001% del total de proteína en tomate maduro) y es muy inestable, ha sido difícil purificar el enzima para su análisis bioquímico (véase el **tema web 22.1**).

La **ACC sintasa** está codificada por miembros de una familia multigénica divergente, que están regulados diferencialmente por varios inductores de la biosíntesis de etileno. En tomate, por ejemplo, hay al menos nueve genes de la ACC sintasa, diferentes subgrupos que son inducidos por auxina, por herida y/o durante la maduración del fruto.

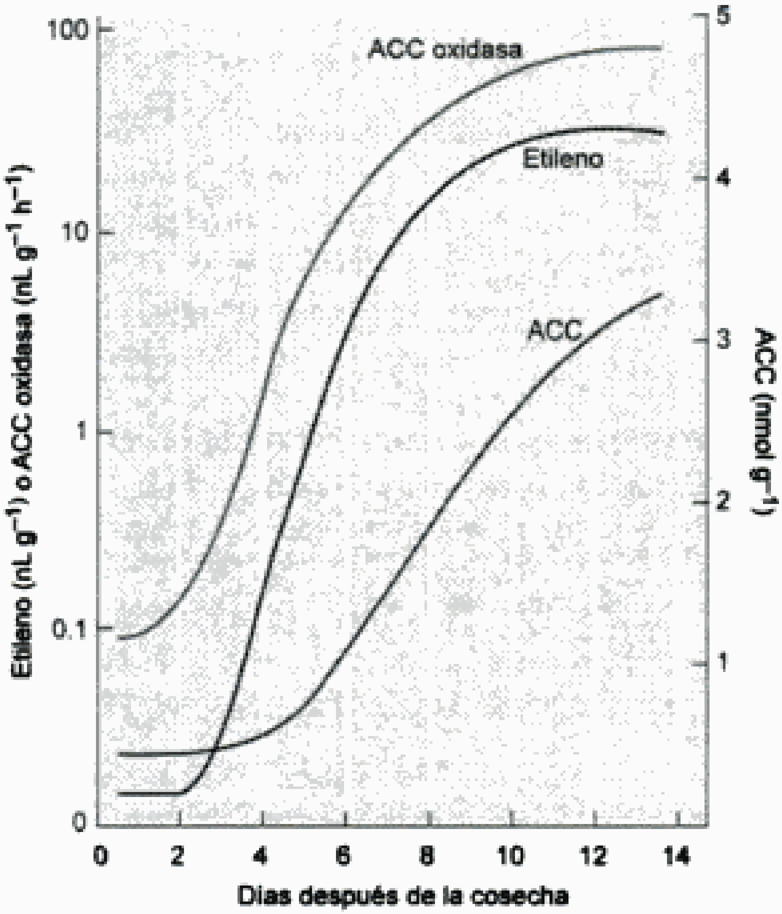


Figura 22.2 Cambios en la producción de etileno, contenido de ACC y de la actividad ACC oxidasa durante la maduración del fruto. Los cambios en la actividad ACC oxidasa y etileno y las concentraciones de ACC en frutos de manzana Golden Delicious. Los datos se representaron en función de los días después la recogida del fruto. El aumento de las concentraciones de etileno y la actividad ACC oxidasa están estrechamente relacionados con la maduración. (A de Hoffman y Yang 1980; B de Yang 1987.)

La maduración del fruto. A medida que los frutos maduran, la tasa de biosíntesis de ACC y etileno aumenta en el tejido. Las actividades enzimáticas de la ACC oxidasa (Figura 22.2) y la ACC sintasa aumentan a medida que aumentan los niveles de RNAm de los genes que codifican cada enzima. Sin embargo, la aplicación de ACC a frutos no maduros sólo aumenta ligeramente la producción de etileno, indicando que el aumento de la actividad de la ACC oxidasa es la etapa limitante de la maduración (McKeon y col. 1995).

La producción de etileno inducida por estrés. La biosíntesis de etileno aumenta en condiciones de estrés como la sequía, la inundación, el enfriamiento, la exposición al ozono o el daño mecánico. En todos estos casos, el etileno es producido por la ruta biosintética normal y el aumento del etileno parece ser un aumento de la transcripción del RNAm de la ACC sintasa. Este «etileno de estrés» está implicado en el

El etileno puede cuantificarse por cromatografía de gases

Históricamente, se usaban bioensayos basados en la triple respuesta de las plántulas para cuantificar los niveles de etileno, pero han sido reemplazados por la **cromatografía de gases**. Se pueden detectar cantidades de hasta 5 partes por billón (ppb) (5 pL por litro)[1] de etileno y el análisis sólo tarda de 1-5 minutos.

Normalmente, el etileno producido por un tejido vegetal se acumula en un vial sellado y se retira una muestra con una jeringuilla. La muestra se inyecta en una columna de cromatografía de gases en la que los diferentes gases son separados y detectados por un detector de ionización de llama. La cuantificación del etileno por este método es muy precisa. Recientemente se ha desarrollado un nuevo método para medir etileno utilizando un detector fotoacústico láser que detecta cantidades de hasta 50 partes por trillón (50 ppt = 0,05 pL L^{-1}) de etileno (Voseek y col. 1997).

EFECTOS DEL ETILENO SOBRE EL DESARROLLO Y LA FISIOLOGÍA

Como hemos visto, el etileno fue descubierto por su efecto sobre el crecimiento de plántulas y la maduración de los frutos. Desde entonces se ha comprobado que regula una gran cantidad de respuestas vegetales, como la germinación de semillas, la expansión celular, la diferenciación celular, la floración, la senescencia y la abscisión. En esta sección consideraremos con más detalle los efectos fenotípicos del etileno.

La maduración del fruto

El término *maduración del fruto* en el uso cotidiano se refiere a los cambios que sufre el fruto y que lo dejan listo para comer. Tales cambios incluyen el ablandamiento, debido a la ruptura enzimática de las paredes celulares, la hidrólisis del almidón, la acumulación de azúcares y la desaparición de ácidos orgánicos y compuestos fenólicos, como los taninos.

Para las semillas, cuya dispersión depende de la ingestión animal, la *maduración* y la *comestibilidad* son sinónimos. Con frecuencia se acumulan en la epidermis de dichos frutos antocianinas y carotenoides con colores brillantes y llamativos, aumentando su visibilidad. Sin embargo, para las semillas que sufren la digestión mecánica u otras formas de dispersión, la *maduración del fruto* puede significar el secado seguido de una ruptura. Debido a su gran importancia en la agricultura, la mayoría de los estudios sobre maduración del fruto se han centrado en frutos comestibles.

Durante años se ha reconocido al etileno como la hormona que acelera la maduración del fruto. La exposición de etileno a los frutos acelera la maduración y el aumento en la

---

[1] pL = picolitro = 10^{-12} L.

TABLA 22.1
Frutos climatéricos y no climatéricos

Climatéricos	No climatéricos
Manzana	Pimiento
Aguacate	Cereza
Plátano	Cítricos
Melón Cantalupe	Uva
Chirimoya	Piña
Higo	Judía verde
Mango	Fresa
Aceituna	Sandía
Melocotón	
Pera	
Caqui	
Ciruela	
Tomate	

aplicaciones prácticas para conseguir bien una maduración uniforme o bien para retrasarla.

Aunque los efectos del etileno exógeno sobre la maduración de frutos son directos y claros, el establecimiento de la relación causal entre el nivel de etileno endógeno y la maduración del fruto es más difícil. Se ha visto que los inhibidores de la biosíntesis del etileno (como el AVG) o de la acción del etileno (como CO_2, MCP o Ag^+) retrasan o incluso evitan la maduración del fruto. Sin embargo, la demostración definitiva de que el etileno es el agente que controla la maduración procede de los experimentos en los que la biosíntesis del etileno estaba bloqueada por la expresión de la versión antisentido de la ACC sintasa o la ACC oxidasa en plantas transgénicas de tomate (véase el **tema web 22.3**). La eliminación de la biosíntesis del etileno en estos tomates transgénicos bloqueó completamente la maduración del fruto y se recuperó al aplicar etileno exógenamente (Séller y col. 1991).

El análisis de la mutación de tomate llamada *never ripe* (del inglés *never ripe*, nunca maduro) aportó la demostración de la necesidad del etileno para la maduración. Como su propio nombre indica, esta mutación bloquea completamente la maduración del fruto. El análisis molecular reveló que la mutación *never ripe* era debida a una mutación en el receptor del etileno que lo hacia incapaz de unir etileno (Lanahan y col. 1994). Estos experimentos proporcionaron la prueba inequívoca de la función del etileno en la maduración del fruto y abrieron la puerta a la manipulación de la maduración del fruto mediante esta biotecnología.

En tomates se han identificado varios genes que están estrechamente regulados durante la maduración (Gray y col. 1994). Durante la maduración, el fruto se hace blando como consecuencia de la hidrólisis de las paredes celulares y los cambios del verde al rojo son debidos a la pérdida de clorofila y a la síntesis del pigmento carotenoide licopeno. Al mismo tiempo, se producen los componentes del aroma y del sabor.

El análisis del RNAm de frutos silvestres de tomate y de plantas modificadas genéticamente que carecen de etileno ha revelado que la expresión génica durante la maduración está regulada al menos por dos rutas independientes:

1. *Una ruta dependiente de etileno* que implica a genes de la biosíntesis del licopeno y del aroma, al metabolismo respiratorio y a la ACC sintasa.
2. *Una ruta de desarrollo independiente de etileno* que implica a los genes que codifican la ACC oxidasa y la clorofilasa.

Por lo tanto, no todos los procesos asociados con la maduración en tomate son dependientes del etileno.

La epinastia de la hoja es una consecuencia del transporte de ACC desde la raíz al tallo

La curvatura hacia abajo de las hojas se produce cuando el lado superior (adaxial) del pecíolo crece más rápido que el inferior (abaxial), efecto que se conoce con el nombre de **epinastia** (Figura 22.5B). El etileno y altas concentraciones de auxina inducen la epinastia, y ahora está bien establecido que las auxinas actúan indirectamente

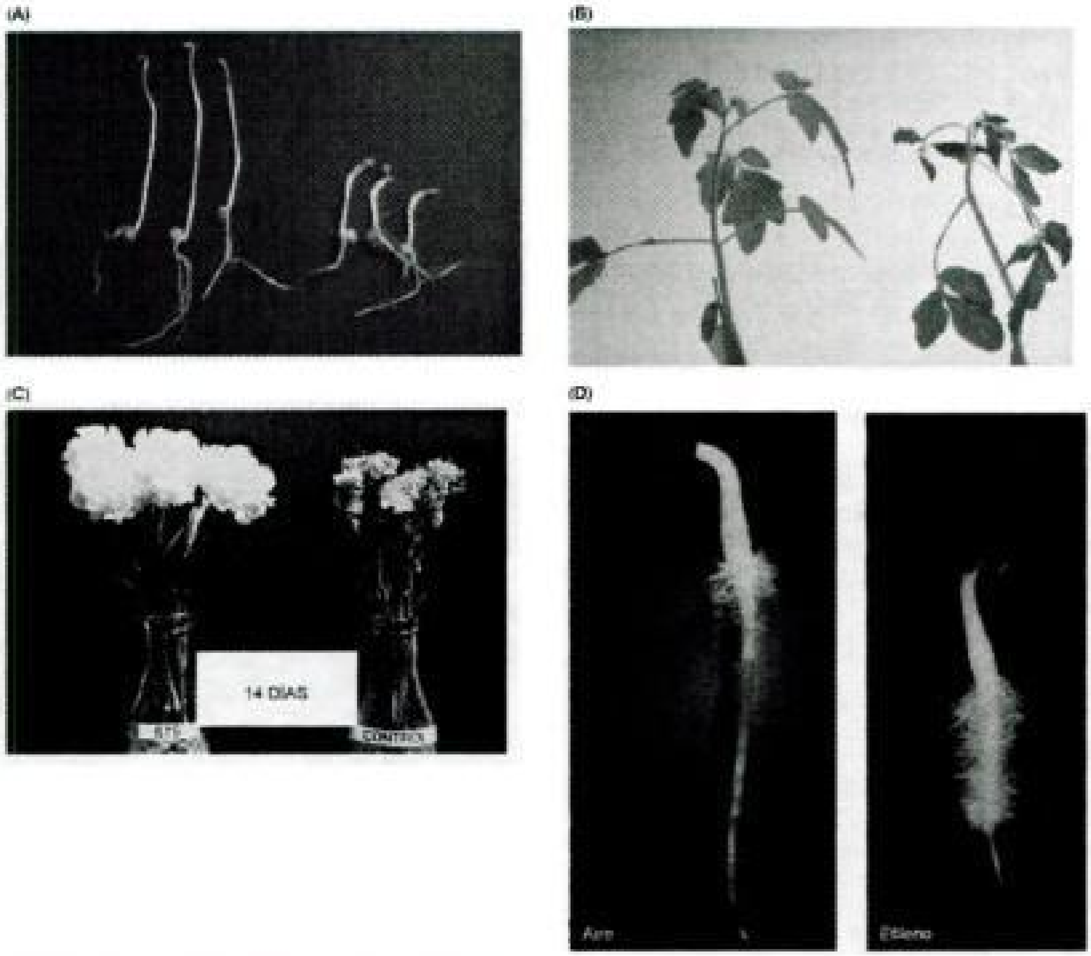


Figura 22.5 Algunos efectos fisiológicos del etileno en tejidos vegetales en varias etapas del desarrollo. (A) La triple respuesta de las plántulas etioladas de guisante. Plántulas de guisante de seis días se trataron con 10 ppm (partes por millón) de etileno (derecha) o no se trataron (izquierda). Las plántulas tratadas muestran una expansión radial, inhibición de la elongación del epicotilo y crecimiento horizontal del epicotilo (diagravitropismo). (B) La epinastia, o curvatura hacia abajo de las hojas de tomate (derecha) está causada por el tratamiento con etileno. La epinastia se produce cuando las células del lado superior del pecíolo crecen más rápidamente que las del lado inferior. (C) Inhibición de la senescencia floral por inhibición de la acción del etileno. Flores de clavel cortadas mantenidas en agua desionizada durante 14 días con (izquierda) o sin (derecha) tiosulfato (STS), un potente inhibidor de la acción del etileno. El bloqueo del etileno dio lugar a una marcada inhibición de la senescencia floral. (D) Promoción de la formación de pelos radicales por el etileno en plántulas de lechuga. Plántulas de dos días tratadas con aire (izquierda) o 10 ppm de etileno (derecha) durante las 24 horas anteriores a la toma de la foto. Nótese la profusión de los pelos radicales en la plántula tratada con etileno. (A y B cortesía de S. Gepstein; C de Reid 1995, cortesía de M. Reid; D de Abeles y col. 1992, cortesía de F. Abeles.)

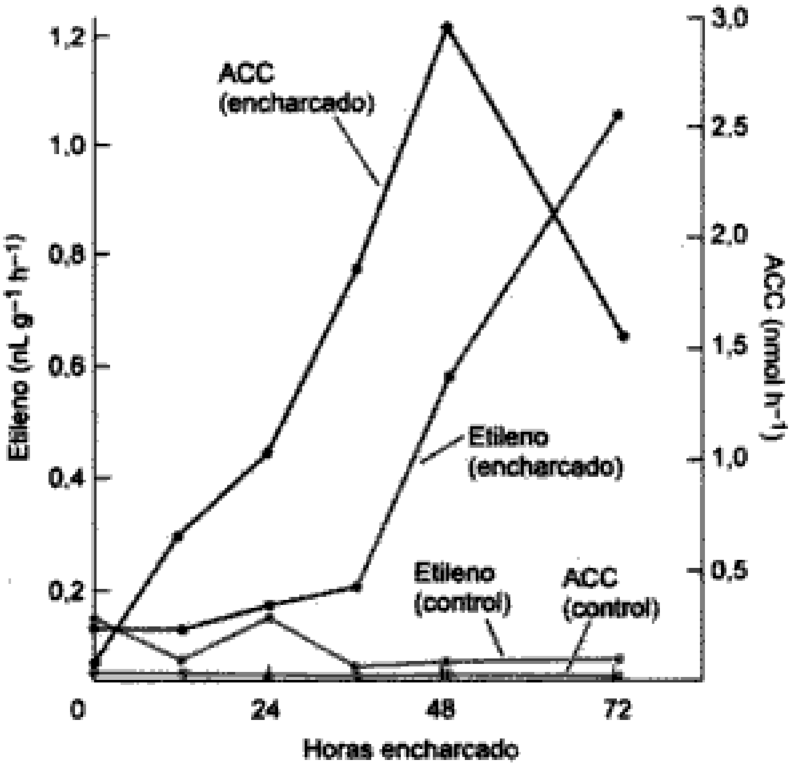


Figura 22.6 Cambios en el contenido de ACC en la savia del xilema y la producción de etileno en el pecíolo, tras la inundación de plantas de tomate. EL ACC se sintetiza en las raíces, pero es convertido a etileno muy lentamente en condiciones anaeróbicas de inundación. El ACC es transportado a través del xilema al tallo, donde es convertido a etileno. El etileno gaseoso no puede ser transportado, por eso normalmente afecta a los tejidos próximos al lugar de producción. El precursor del etileno, ACC, es la molécula transportable y puede producir etileno lejos del lugar de síntesis del ACC. (Según Bradford y Yang 1980.)

al inducir la producción de etileno. Como analizaremos más adelante en este capítulo, existe una gran variedad de condiciones de estrés, como el estrés salino o la infección patogénica, que aumentan la producción de etileno y también inducen la epinastia. No se conoce una función fisiológica para esta respuesta.

En tomate y otras dicotiledóneas, la inundación o las condiciones anaeróbicas alrededor de las raíces aumentan la síntesis de etileno en el tallo, dando lugar a la respuesta epinástica. Dado que las raíces son capaces de percibir estas condiciones ambientales estresantes y la respuesta se produce en el tallo, se debe transportar una señal desde las raíces hasta los tallos. Esta señal es el ACC, el precursor inmediato del etileno, ya que se encontraron niveles de ACC significativamente más altos en la savia del xilema de las raíces de tomate después de estar encharcadas 1 ó 2 días (Figura 22.6) (Bradford y Yang 1980).

Como el agua llena los espacios aéreos del suelo encharcado y el O_2 difunde lentamente a través del agua, la concentración de oxígeno alrededor de las raíces encharcadas disminuye drásticamente. La elevada producción de etileno parecer ser provocada por un aumento en la acumulación de ACC en las raíces en condiciones anaeróbicas, dado que la conversión de ACC a etileno necesita oxígeno (véase la figura 22.1). El ACC acumulado en las raíces anaeróbicas es entonces transportado a los tallos, donde es rápidamente convertido en etileno.

El etileno induce la expansión celular lateral

A concentraciones superiores a 0,1 μL L^{-1}, el etileno cambia el patrón de crecimiento de las plántulas al reducir la tasa de elongación y aumentar la expansión lateral, provocando el hinchamiento de la región por debajo del gancho apical. Estos efectos del etileno son comunes en la mayoría de las dicotiledóneas y forman parte de la **triple respuesta**. En *Arabidopsis,* la triple respuesta consiste en la inhibición e hinchamiento del hipocotilo, inhibición de la elongación de la raíz y exageración del gancho apical (Figura 22.7).

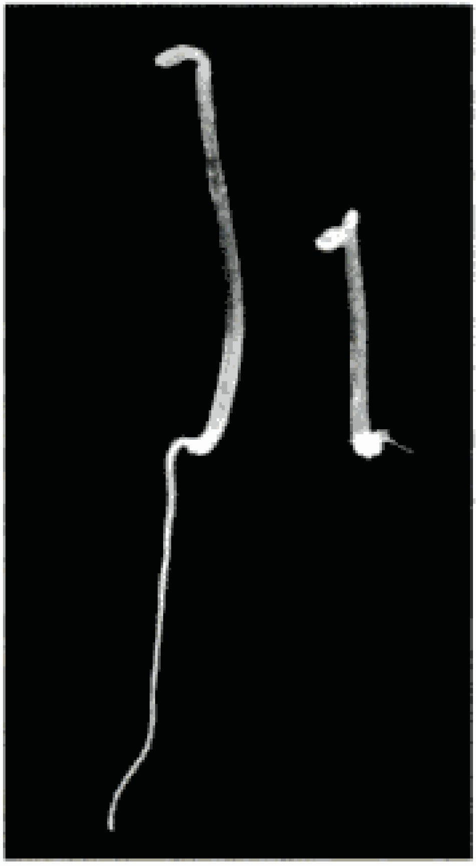
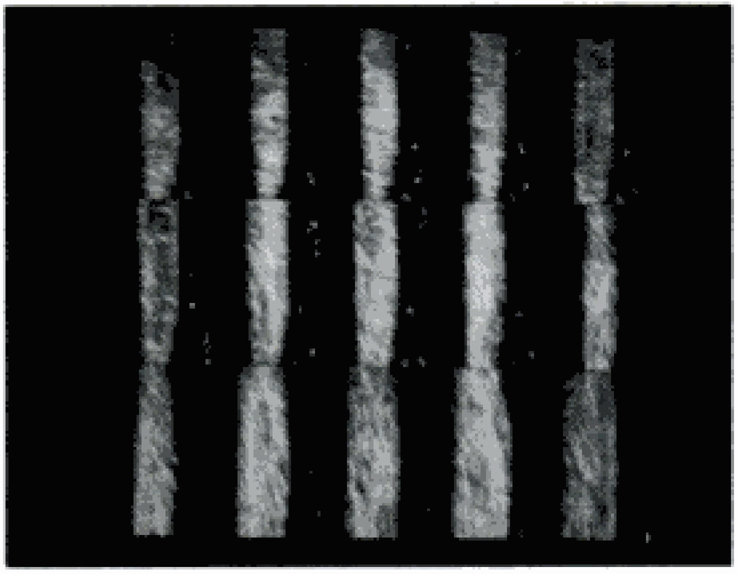


Figura 22.7 Triple respuesta en *Arabidopsis*. Se hicieron crecer plántulas etioladas de tres días en presencia (derecha) o ausencia (izquierda) de 10 ppm de etileno. Nótese el acortamiento del hipocotilo, la reducción de la elongación de la raíz y la exagerada la curvatura apical del garfio que resulta de la presencia del etileno.

Como analizamos en el capítulo 15, la direccionalidad de la expansión celular de la planta está determinada por la orientación de las microfibrillas de la pared celular. Las microfibrillas transversales refuerzan la pared celular en dirección lateral, por lo que la presión de turgencia se canaliza hacia la elongación celular. La orientación de las microfibrillas, de hecho, está determinada por la orientación de los haces corticales de microtúbulos del citoplasma cortical (periférico). En células vegetales que se están alargando, los microtúbulos corticales se reordenan transversalmente, dando lugar a un ordenamiento transversal a las microfibrillas de celulosa.

Durante la triple respuesta de la plántula al etileno, el patrón transversal del alineamiento de los microtúbulos se interrumpe y los microtúbulos cambian a una disposición longitudinal. Este giro de 90° en la orientación del microtúbulo conduce a una deposición paralela de las microfibrillas de celulosa. La nueva pared depositada se ve reforzada en la dirección longitudinal más que en la transversal, lo que promueve la expansión lateral más que la elongación.

¿Cómo cambian los microtúbulos de una orientación a otra? Para estudiar este fenómeno,



Microtúbulos transversales

Figura 22.8 Reorientación de los microtúbulos de una orientación transversal a una longitudinal en células epidérmicas de tallos de guisante en respuesta a una herida. A una célula viva se le microinyectó rodamina conjugada con tubulina, que se incorpora a los microtúbulos vegetales. A intervalos de tiempo de unos 6 minutos aproximadamente se muestran los microtúbulos corticales sufriendo una reorientación desde la red transversal a la oblicua/longitudinal. La reorientación parece implicar la aparición de grupos de nuevos microtúbulos «discordantes» en la nueva dirección, concomitante con la desaparición de los microtúbulos desde el anterior alineamiento. (Según Yuan y col. 1994, foto cortesía de C. Lloyd.)

en células epidérmicas de guisante (*Pisum sativum*) se inyectó la proteína del microtúbulo tubulina, que se encontraba covalentemente unida a un colorante fluorescente. Esta «señal» fluorescente no interfería en el ensamblaje de los microtúbulos. El procedimiento permitió a los investigadores seguir el ensamblaje de los microtúbulos usando un microscopio láser confocal de barrido, que puede centrarse en muchos planos de la célula.

Se observó que los microtúbulos no se reorientan desde la dirección transversal a la longitudinal mediante una despolimerización total de los microtúbulos transversales seguida de una repolimerización en el nuevo reordenamiento longitudinal de los microtúbulos. En lugar de eso, parece haber un aumento del número de microtúbulos alineados no transversalmente en determinadas localizaciones (Figura 22.8). Los microtúbulos vecinos adoptan entonces un nuevo alineamiento, de modo que en una etapa coexisten diferentes tipos de alineamientos antes de que adopten una orientación longitudinal uniforme (Yuan y col. 1994). Aunque las reorientaciones que se pudieron observar en este estudio fueron más espontáneas que inducidas por el etileno, se supone que la reorientación de los microtúbulos inducida por etileno debe seguir un mecanismo similar.

El gancho apical de las plántulas que han crecido en oscuridad se mantiene por la producción de etileno

Las plántulas etiolados de las dicotiledóneas se suelen caracterizar por un gancho pronunciado justo debajo del ápice caulinar (véase la figura 22.7). Esta forma de gancho facilita el desplazamiento de la plántula a través del suelo, protegiendo el tierno meristemo apical.

Como la epinastia, la formación y el mantenimiento del gancho es consecuencia del crecimiento asimétrico inducido por el etileno. La forma cerrada del gancho es el resultado del mayor crecimiento del lado exterior respecto al lado interior. Cuando el gancho se expone a la luz, se abre debido a que aumenta la velocidad de crecimiento del lado más interno, equilibrando las velocidades de crecimiento de ambos lados. Los aspectos cinemáticos del crecimiento del gancho (por ejemplo, el mantenimiento de la forma de gancho) se analizaron en el capítulo 16.

La luz del rojo induce la apertura del gancho y la del rojo lejano invierte el efecto del rojo, indicando que el fitocromo es el fotorreceptor implicado en este proceso (véase el capítulo 17). Existe una estrecha interacción entre el control de la apertura del gancho por el fitocromo y el etileno. A medida que se produce etileno en el tejido del gancho en la oscuridad, se inhibe el crecimiento en las células del lado más interno. La luz del rojo inhibe la síntesis del etileno, promoviendo el crecimiento en el lado más interno y la apertura del gancho.

Tanto la mutación insensible a auxinas (*axr1*) como el tratamiento de plántulas de tipo silvestre con NPA (ácido 1-naftilftalámico), un inhibidor del transporte polar de auxinas, bloquean la formación del gancho apical en *Arabidopsis*. Estos y otros resultados indican la implicación de las auxinas en el mantenimiento de la estructura del gancho. El crecimiento más rápido de los tejidos más exteriores respecto a los internos podría reflejar una dependencia del etileno del gradiente de auxinas, similar al gradiente lateral de auxina que desarrolla durante la curvatura fototrópica (véase el capítulo 19).

En *Arabidopsis* se ha identificado un gen necesario para la formación del gancho apical, *HOOKLESS1* (llamado así porque las mutaciones en este gen dan lugar a plántulas que carecen del gancho apical, hookless, del inglés sin gancho1) (Lehman y col. 1996). La modificación de este gen altera severamente el patrón de expresión de los genes que responden a auxinas. Cuando se sobreexpresa este gen en *Arabidopsis*, da lugar a la formación de un gancho constitutivo incluso con luz. *HOOKLESS1* codifica una posible N-acetiltransferasa que se supone que regula (por un mecanismo desconocido) una distribución desigual del gancho apical inducido por etileno.

cies (véase la figura 22.5D). Esta relación ha sido estudiada en *Arabidopsis*, en la que los pelos radiculares están localizados en las células epidérmicas que limitan la unión entre las células corticales (Dolan y col. 1994).

En raíces tratadas con etileno, se forman pelos adicionales en localizaciones anormales de la epidermis; es decir, células que no limitan la unión entre células corticales se diferencian en pelos radiculares (Tanimoto y col. 1995). Las plántulas que han crecido en presencia de inhibidores de etileno (como Ag^+), así como mutantes insensibles al etileno, tienen una formación de pelos radiculares reducida en respuesta al etileno. Estas observaciones sugieren que el etileno actúa como un regulador positivo en la diferenciación de pelos radiculares.

El etileno induce la floración en la familia de la piña

Aunque el etileno inhibe la floración en muchas especies, induce la floración en piña y en otros miembros de su familia, y en estas especies se usa comercialmente para sincronizar el cuaje del fruto. La floración de otras especies, como el mango, también se inicia por etileno. En plantas que tienen separadas las flores femeninas y masculinas (especies monoicas), el etileno puede cambiar el sexo de las flores en desarrollo (véase el capítulo 24). Un ejemplo de este efecto es la promoción de la formación de la flor femenina en pepino.

El etileno aumenta la velocidad de la senescencia de la hoja

Como describimos en el capítulo 16, la senescencia es un proceso genéticamente programado del desarrollo que afecta a todos los tejidos de la plantas. Existen varias evidencias fisiológicas que apoyan el papel del etileno y de las citoquininas en el control de la senescencia de la hoja:

- La aplicación de etileno exógeno o ACC (el precursor del etileno) acelera la senescencia de la hoja y el tratamiento con citoquininas la retrasa (véase el capítulo 21).
- El aumento de la producción de etileno está asociado con la pérdida de clorofila y la decoloración de la corola, que son características de la senescencia de la hoja y de la flor (véase la figura 22.5C); se ha encontrado una correlación inversa entre los niveles de citoquininas de las hojas y el inicio de la senescencia.
- Los inhibidores de la síntesis del etileno (por ejemplo, AVG o Co^{2+}) o de la acción del etileno (por Ag^+ o CO_2) retrasan la senescencia de la hoja.

Las plantas transgénicas que expresan las versiones antisentido de los genes que codifican los enzimas implicados en la ruta biosintética del etileno, como la ACC sintasa y la ACC oxidasa, sólo pueden sintetizar etileno a niveles muy bajos. De acuerdo con esta función del etileno en la senescencia, se ha demostrado que tales mutantes antisentido retrasan la senescencia de la hoja, así como la maduración del fruto en tomate (véase el **tema web 22.1**).

El papel del etileno en las respuestas de defensa es complejo

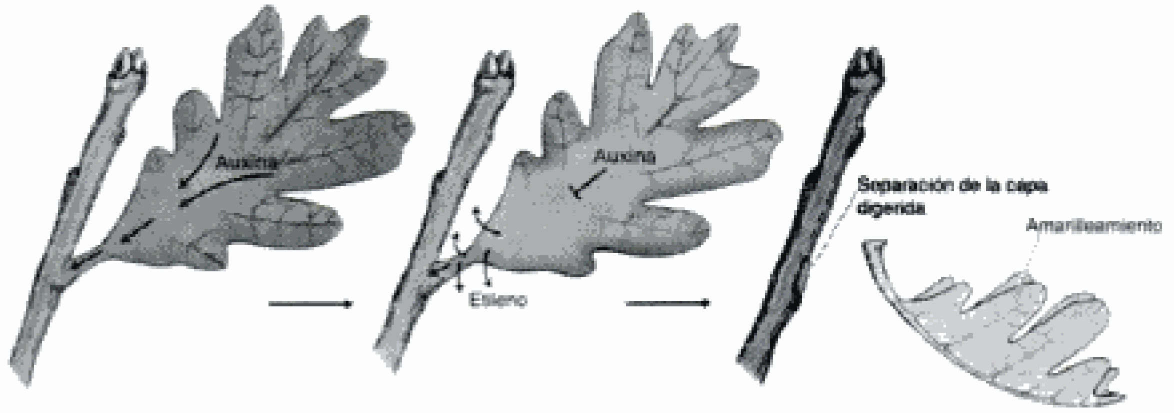
La infección patogénica y la enfermedad sólo se producen si las interacciones entre el huésped y el patógeno son genéticamente compatibles. Sin embargo, la producción de etileno aumenta generalmente en respuesta al ataque de un patógeno tanto en las interacciones compatibles (es decir, patogénicas) como en las incompatibles (no patogénicas).

El descubrimiento de los mutantes insensibles al etileno ha permitido establecer la función del etileno en respuesta a varios patógenos. La idea que surge actualmente de la implicación del etileno en la patogénesis es compleja y depende de la interacción planta-patógeno. Por ejemplo, al bloquear la respuesta del etileno no se altera la respuesta de resistencia a la bacteria *Pseudomonas* en *Arabidopsis* ni al virus del mosaico del tabaco en tabaco. En interacciones compatibles de estos patógenos con sus huéspedes, no obstante, la eliminación de la capacidad de responder al etileno impide el desarrollo de los síntomas de enfermedad, aunque el crecimiento del patógeno parece no verse afectado por ello.

Por otro lado, se necesita el etileno junto con el ácido jasmónico (véase el capítulo 13), para la activación de varios genes de defensa. Además, los mutantes de tabaco y de *Arabidopsis* insensibles al etileno llegan a ser susceptibles a varios hongos patogénicos necrotróficos del suelo (exterminadores de células) que normalmente no son patogénicos para las plantas. Así, el etileno parece estar implicado en la respuesta de resistencia a algunos patógenos, pero no a otros.

La biosíntesis de etileno en la zona de abscisión está regulada por auxinas

La separación de hojas, frutos, flores y otros órganos de la planta se denomina **abscisión** (véase el **tema web 22.4**). La abscisión tiene lugar en unas capas de células específicas, llamadas **capas de abscisión**, que llegan a estar morfológica y biológicamente diferenciadas durante el desarrollo de los órganos. El debilitamiento de las paredes



Fase de mantenimiento de la hoja
Los niveles altos de auxina reducen la sensibilidad al etileno de la zona de abscisión y evitan la escisión de la hoja.

Fase de inducción de la separación
Una reducción de la auxina de la hoja aumenta la producción de etileno y la sensibilidad al etileno de la zona de abscisión, lo que inicia la fase de abscisión.

Fase de separación
Se sintetizan enzimas que hidrolizan los polisacáridos de la pared celular, lo que da lugar a la separación celular y a la abscisión de la hoja.

Figura 22.11 Representación esquemática de las funciones de la auxina y del etileno durante la abscisión de la hoja. En la fase de inducción de la abscisión, disminuye el nivel de auxina y aumenta el nivel de etileno. Estos cambios en el equilibrio hormonal aumentan la sensibilidad de las células diana al etileno. (Según Morgan 1984.)

los pecíolos a los que se ha eliminado el limbo de la hoja retrasa el proceso de la abscisión. Sin embargo, la aplicación de auxinas en el lado próximo a la zona de abscisión (es decir, el lado más próximo al tallo) *acelera* el proceso de abscisión. Estos resultados indican que no es la cantidad absoluta de auxinas en la zona de abscisión, sino el *gradiente* de auxinas, el que controla la sensibilidad de estas células al etileno.

En la fase de inducción de la abscisión, la cantidad de auxina de la hoja disminuye y aumenta el nivel de etileno. El etileno parece reducir la actividad de las auxinas, reduciendo su síntesis y su transporte y aumentando su destrucción. La reducción de la concentración de las auxinas libres aumenta la respuesta de las células diana específica al etileno. La fase de separación se caracteriza por la inducción de genes específicos que codifican enzimas hidrolíticas de los polisacáridos y de las proteínas de las paredes celulares.

Las *células diana*, localizadas en la zona de abscisión, sintetizan celulasa y otros enzimas que degradan polisacáridos y los secretan a través de las vesículas secretoras derivadas del aparato de Golgi. La acción de estos enzimas conduce a la despolimerización de la pared celular, la separación celular y la abscisión.

El etileno tiene importantes usos comerciales

El etileno es una de las hormonas que más se usa en la agricultura porque regula muchos procesos fisiológicos en el desarrollo vegetal. Las auxinas y el ACC pueden estimular la biosíntesis natural del etileno y en algunos casos se usan en práctisa. Otro ejemplo de esta tecnología es la petunia, en la que la biosíntesis del etileno se ha bloqueado por transformación de una versión antisentido de la ACC oxidasa. En estas plantas transgénicas, la senescencia y el marchitamiento de los pétalos de las flores cortadas están retrasados.

LOS MECANISMOS CELULARES Y MOLECULARES DE LA ACCIÓN DEL ETILENO

A pesar de la gran cantidad de efectos del etileno sobre el desarrollo, se supone que las primeras etapas de la acción del etileno son similares en todos los casos. Implican la unión a un receptor, seguida de una o más rutas de transducción de señal (véase el capítulo 14 en la página web) que dan lugar a una respuesta celular. Por último, el etileno ejerce su efecto principalmente por alteración del patrón de expresión génico. En los últimos años, se ha hecho un importante avance en el conocimiento de la percepción del etileno, como resultado de los estudios genético moleculares realizados en *Arabidopsis thaliana.*

Un punto clave para el descubrimiento de los componentes de la ruta de señalización ha sido la morfología de la triple respuesta de plántulas etioladas de *Arabidopsis* para aislar mutantes cuya respuesta al etileno estuviera afectada (véase la figura 22.7) (Guzman y Ecker 1990). En experimentos de mutagénesis de semillas de *Arabidopsis* que han crecido en oscuridad en un medio de agar en presencia o ausencia de etileno durante 3 días se han identificado dos clases de mutantes:

1. Mutante que no responden al etileno exógeno (mutantes resistentes al etileno o insensibles al etileno).
2. Mutantes que desarrollan la respuesta incluso en ausencia de etileno (mutantes constitutivos).

Los mutantes insensibles al etileno se han identificado como plántulas altas que se extienden sobre las plántulas pequeñas con triple respuesta cuando se las hace crecer en presencia de etileno. Por el contrario, los mutantes de respuesta constitutiva al etileno se identificaron como plántulas que presentaban la triple respuesta en ausencia de etileno exógeno.

Los receptores del etileno están relacionados con el sistema bacteriano de dos componentes histidina quinasa

El primer mutante insensible al etileno que se aisló fue *etr1* (del inglés *et*hylene *r*esistant *1*, resistente al etileno *1*) (Figura 22.12). El mutante *etr1* se identificó bus-

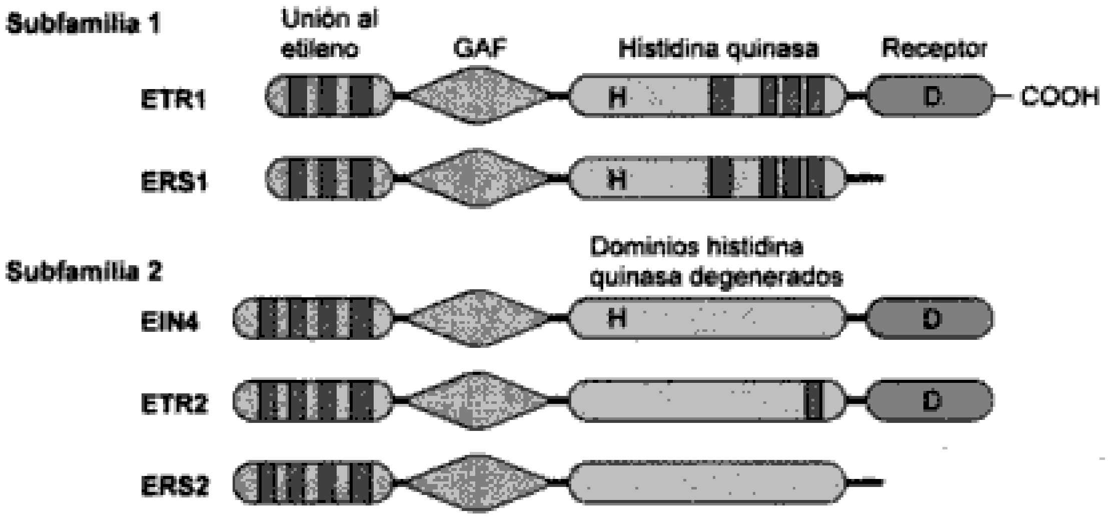


Figura 22.13 Diagrama esquemático de las cinco proteínas receptoras de etileno y sus dominios funcionales. El dominio GAF es un dominio conservado de unión a cGMP que se encuentra en un grupo diverso de proteínas. Nótese que EIN4, ETR2 y ERS2 tienen dominios degenerados histidina quinasa.

La similitud entre los receptores bacterianos y la insensibilidad al etileno de los mutantes *etr1* sugirió que *ETR1* podría ser un receptor de etileno. De acuerdo con esta hipótesis, la expresión de *ETR1* en levadura proporcionó la capacidad de unirse al etileno marcado radiactivamente con una afinidad que estaba próxima a las curvas de dosis *versus* respuesta de etileno en plántulas de *Arabidopsis* (véase el **tema web 22.5**).

El genoma de *Arabidopsis* codifica cuatro proteínas adicionales similares a ETR1 que funcionan también como receptores del etileno: ETR2, ERS1 (del inglés *E*TR1-*r*elated *s*equence *1*, secuencia relacionada con ETR1 1), ERS2 y EIN4 (Figura 22.13). Como ETR1, se ha demostrado que estos receptores unen etileno y las mutaciones sin sentido en los genes que codifican estas proteínas, análogas a la mutación original *etr1*, impiden que el etileno se una al receptor, mientras que permiten que el receptor funcione normalmente como un regulador de la ruta de respuesta del etileno en ausencia de etileno.

Todas estas proteínas comparten al menos dos dominios:

1. El dominio amino terminal se extiende dentro de la membrana al menos tres veces y contiene un sitio de unión al etileno. El etileno pueden acceder rápidamente al sitio debido a su hidrofobicidad.
2. La porción media de los receptores de etileno contiene un dominio catalítico histidina quinasa.

Un grupo de receptores de etileno tiene también un dominio carboxilo terminal similar a los dominios bacterianos receptores de dos componentes. En otros sistemas de dos componentes, la unión de un ligando regula la actividad del dominio histidina quinasa, que se autofosforila en un residuo de histidina conservado. El fosfato entonces es transferido a un residuo de ácido aspártico localizado en el dominio receptor fusionado. Aunque se ha demostrado la actividad histidina quinasa para uno de los receptores del etileno (ETR1), otros carecen de aminoácidos críticos, haciendo improbable que posean esta actividad histidina quinasa. Se desconoce pues el mecanismo bioquímico de estos receptores del etileno.

Estudios recientes indican que ETR1 está localizado en el *retículo endoplásmico*, más que en la membrana plasmática donde se consideraba inicialmente que estaba. Dicha localización intracelular del receptor del etileno está en consonancia con la naturaleza hidrofóbica del etileno, lo que le permite el paso libremente a través de la membrána plasmática a la célula. En este sentido el etileno es similar a las moléculas de señalización hidrofóbicas de los animales, como los esteroides y el óxido nítrico gaseoso, que se unen a receptores intracelulares.

La alta afinidad de unión del etileno a su receptor necesita cobre como cofactor

Incluso antes de la identificación del receptor, los científicos habían predicho que el etileno podría unirse a su receptor a través de un metal de transición como cofactor, probablemente cobre o zinc. Esta predicción estaba basada en el análisis de la alta afinidad de las olefinas, como el etileno, por estos metales de transición. Recientes estudios genéticos y bioquímicos han demostrado estas predicciones.

El análisis del receptor ETR1 expresado en levadura demostró que un ión de cobre estaba coordinado con una proteína y que este cobre era necesario para la unión del etileno con alta afinidad (Rodríguez y col. 1999). El ión plata, podía sustituir al cobre para dar una unión de alta afinidad, lo que indica que la plata bloquea la acción del etileno, no interfiriendo con la unión del etileno, sino evitando los cambios que se producen normalmente en la proteína cuando el etileno se une a su receptor.

Las evidencias de que el cobre es necesario para la función del receptor del etileno *in vivo* vinieron de la identificación del gen *RAN1* de *Arabidopsis* (Hirayama y col. 1999). Las mutaciones *ran1* bloquean la formación de los receptores funcionales del etileno (Woeste y Kieber 2000). La clonación de *RAN1* reveló que codifica una proteína similar a una proteína de levadura necesaria para la transferencia de un cofactor del ión cobre a una proteína transportadora de hierro. Del mismo modo, es probable que RAN1 esté implicado en la adición de un cofactor de cobre necesario para el normal funcionamiento de los receptores de etileno.

Los receptores de etileno libres son reguladores negativos de la ruta de respuesta

En *Arabidopsis*, tomate y probablemente otras especies vegetales, los receptores de etileno están codificados por familias multigénicas. La mutación dirigida (completa inactivación) de los cinco receptores del etileno de *Arabidopsis* (ETR1, ETR2, ERS1, ERS2 y EIN4) ha demostrado que son redundantes a nivel funcional (Hua y Meyerowitz 1998). Es decir, la mutación de uno solo de los genes que codifica una de estas proteínas no tiene ningún efecto, pero si una planta tiene los cinco genes de los receptores mutados muestra una respuesta constitutiva al etileno (Figura 22.14D).

La observación de que las respuestas al etileno, como la triple respuesta, puedan llegar a ser constitutivas cuando los receptores están mutados indica que los receptores normalmente están «activados» en *ausencia* de etileno y que la función que tie-

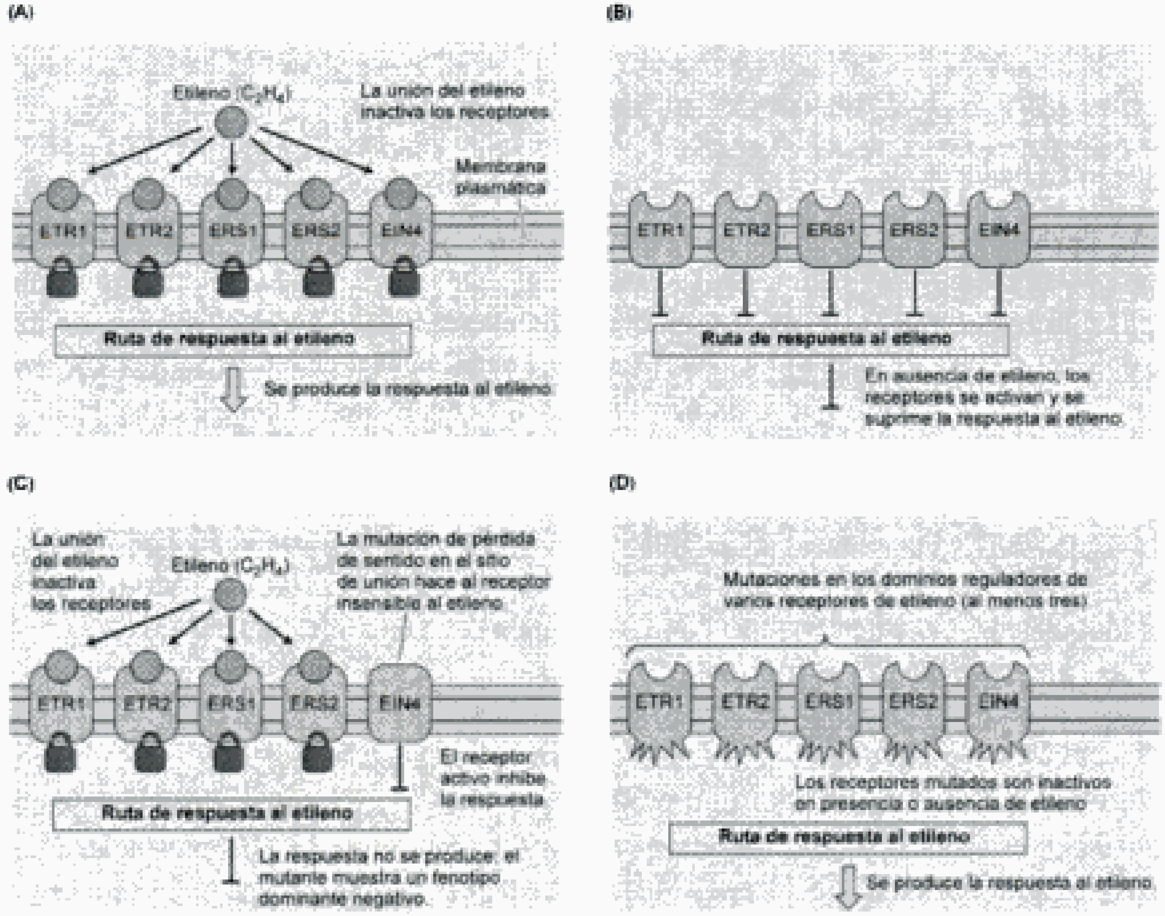

(A)
Etileno (C_2H_4)
La unión del etileno inactiva los receptores
Membrana plasmática
ETR1
ETR2
ERS1
ERS2
EIN4
Ruta de respuesta al etileno
Se produce la respuesta al etileno
(B)
ETR1
ETR2
ERS1
ERS2
EIN4
Ruta de respuesta al etileno
En ausencia de etileno, los receptores se activan y se suprime la respuesta al etileno
(C)
La unión del etileno inactiva los receptores
Etileno (C_2H_4)
La mutación de pérdida de sentido en el sitio de unión hace al receptor insensible al etileno
ETR1
ETR2
ERS1
ERS2
EIN4
El receptor activo inhibe la respuesta
Ruta de respuesta al etileno
La respuesta no se produce: el mutante muestra un fenotipo dominante negativo
(D)
Mutaciones en los dominios reguladores de varios receptores de etileno (al menos tres)
ETR1
ETR2
ERS1
ERS2
EIN4
Los receptores mutados son inactivos en presencia o ausencia de etileno
Ruta de respuesta al etileno
Se produce la respuesta al etileno

Figura 22.14 Modelo de la acción del receptor del etileno basado en el fenotipo de receptores mutantes. (A) En el tipo silvestre, la unión del etileno inactiva los receptores, permitiendo que se produzca la respuesta. (B) En ausencia de etileno, el receptor actúa como un regulador negativo de la ruta de respuesta. (C) Una mutación de pérdida de sentido, interfiere en la unión del etileno al receptor, pero deja el sitio regulador activo, dando lugar a un fenotipo negativo dominante. (D) Las mutaciones de los receptores que afectan a los sitios reguladores dan lugar a una respuesta constitutiva al etileno.

ne el receptor cuando está *unido a* su ligando (el etileno), es *detener* la ruta de señalización que conduce a la respuesta (Figura 22.14B). La unión del etileno inactiva los receptores, impidiendo que continúe la ruta de respuesta (Figura 22.14A).

A diferencia de los receptores mutados en los dominios reguladores, los receptores con mutaciones de pérdida de sentido en el sitio de unión del etileno (como se produce en el mutante original *etr1*) son incapaces de unir etileno, pero todavía son activos como reguladores negativos de la ruta de respuesta al etileno. Dichas mutaciones sin sentido dan lugar a una planta que expresa un grupo de receptores que ya no pueden ser inactivados por el etileno y, por lo tanto, le confieren un *fenotipo dominante insensible al etileno* (Figura 22.14C). Aunque los receptores normales pueden ser inactivados por etileno, los receptores mutantes continúan enviando señales a la célula para suprimir las respuestas al etileno, tanto si el etileno está presente como si no lo está.

Una serina/treonina proteína quinasa también está implicada en la señalización del etileno

La mutación recesiva *ctr1* (del inglés *c*onstitutive *t*riple *r*esponse *1*, triple respuesta en ausencia de etileno1) fue identificada en la búsqueda de mutaciones que tuvieran una respuesta constitutiva al etileno (Figura 22.15). El hecho de que la mutación provoque una *activación* de la respuesta al etileno sugiere que la proteína del tipo sil-

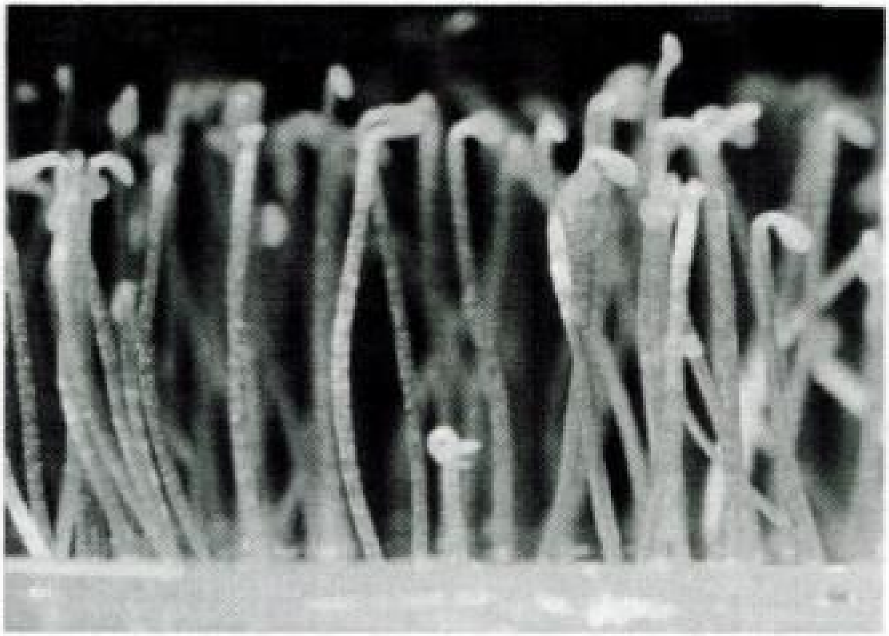


Figura 22.15 Selección de mutantes de *Arabidopsis* que muestren una triple respuesta constitutiva. Las plántulas crecieron durante 3 días en oscuridad con aire. Se aprecia una única plántula mutante *ctr1* entre las demás plántulas de tipo silvestre. (Cortesía de J. Kieber.)

vestre actúa como un *regulador negativo* de la ruta de respuesta (Kieber y col. 1993), del mismo modo que los receptores de etileno.

CTR1 parece estar relacionada con RAF-1, una serina/treonina proteína quinasa MAPKKK (*p*roteína *q*uinasa *q*uinasa *q*uinasa *a*ctivada por *m*itógeno) que está implicada en la transducción de varias señales reguladoras externas y en las rutas de señalización en un amplio rango de organismos que van desde la levadura a los seres humanos (véase el capítulo 14 en la página web). En las células animales, el producto final de la cascada MAP quinasa es un factor de transcripción fosforilado que regula la expresión de un gen en el núcleo.

EIN2 codifica una proteína transmembrana

La mutación *ein2* (*insensible* al *e*tileno 2) bloquea todas las respuestas del etileno en plántulas y en plantas adultas de *Arabidopsis*. El gen *EIN2* codifica una proteína que contiene 12 segmentos transmembrana y que es muy similar a la familia de las N-RAMP (*p*roteína *m*acrófaga *a*sociada a la *r*esistencia *n*atural), proteínas transportadoras de cationes en animales (Alonso y col. 1999), sugiriendo que pueden actuar como canal o poro. Hasta la fecha, no obstante, los investigadores no han podido demostrar una actividad transportadora de esta proteína y se desconoce la localización intracelular de la misma.

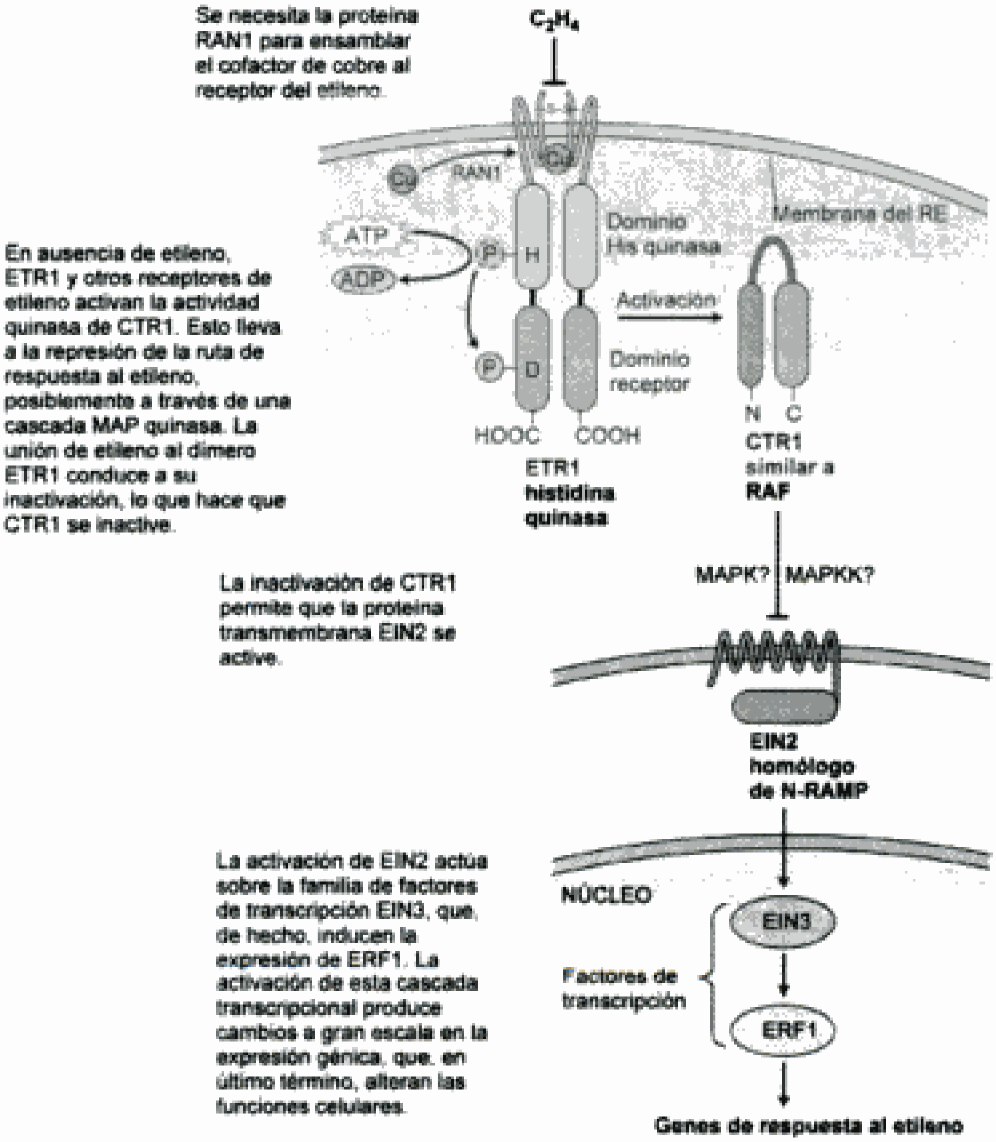
Es interesante destacar que se han identificado las mutaciones en el gen *EIN2* en las búsquedas genéticas de resistencias a otras hormonas, como el ácido jasmónico y el ABA, lo que sugiere que EIN2 puede ser un intermediario común en la ruta de transducción de señal de varias hormonas y otras señales químicas.

El etileno regula la expresión génica

Uno de los primeros efectos de la señalización del etileno es una alteración de la expresión de varios genes. El etileno afecta a los niveles de transcritos de RNAm de numerosos genes, como los genes que codifican la celulasa, así como genes relacionados con la maduración y genes de la biosíntesis del etileno. Se han identificado las secuencias reguladoras llamadas **elementos de respuesta al etileno**, o **EREs**, de los genes regulados por etileno.

Los componentes claves que median los efectos del etileno en la expresión génica son la familia de factores de transcripción EIN3 (Chao y col. 1997). Hay al menos cuatro genes similares a EIN3 en *Arabidopsis* y se han identificado homólogos en tomate y tabaco. En respuesta a una señal del etileno, los homodímeros de EIN3 o sus parálogos (proteínas estrechamente relacionadas), se unen al promotor de un gen llamado *ERF1* (*f*actor de *r*espuesta al *e*tileno 1) y se activa su transcripción (Solano y col. 1998).

ERF1 codifica una proteína que pertenece a la familia de factores de transcripción llamadas **proteínas de unión de ERE (EREBP)**, que fueron identificadas inicialmente en tabaco como proteínas que se unían a secuencias ERE (Ohme-Takagi y Shinshi 1995). Varios EREBP se inducen rápidamente en respuesta al etileno. Los genes EREBP existen en *Arabidopsis* como una gran familia génica, pero sólo unos pocos de ellos son inducibles por etileno.


C_2H_4
Cu
RAN1
Cu
ATP
ADP
P
H
Dominio His quinasa
Membrana del RE
Activación
P
D
Dominio receptor
HOOC
COOH
N
C
ETR1 histidina quinasa
CTR1 similar a RAF
MAPK?
MAPKK?
EIN2 homólogo de N-RAMP
NÚCLEO
EIN3
Factores de transcripción
ERF1
Genes de respuesta al etileno

Se necesita la proteína RAN1 para ensamblar el cofactor de cobre al receptor del etileno.

En ausencia de etileno, ETR1 y otros receptores de etileno activan la actividad quinasa de CTR1. Esto lleva a la represión de la ruta de respuesta al etileno, posiblemente a través de una cascada MAP quinasa. La unión de etileno al dímero ETR1 conduce a su inactivación, lo que hace que CTR1 se inactive.

La inactivación de CTR1 permite que la proteína transmembrana EIN2 se active.

La activación de EIN2 actúa sobre la familia de factores de transcripción EIN3, que, de hecho, inducen la expresión de ERF1. La activación de esta cascada transcripcional produce cambios a gran escala en la expresión génica, que, en último término, alteran las funciones celulares.

Figura 22.16 Modelo de la señalización del etileno en *Arabidopsis*. La unión del etileno al receptor ETR1, que es una proteína integral de la membrana del retículo endoplásmico. En la célula pueden existir múltiples isoformas de los receptores de etileno; sólo se muestra ETR1 para simplificar el esquema. El receptor es un dímero, mantenido por enlaces disulfuro. El etileno se une al dominio transmembrana, a través de un cofactor de cobre, que está unido a los receptores de etileno a través de la proteína RAN1.

La epistasia génica revela el orden de los componentes de la señalización del etileno

El orden de acción de los genes *ETR1*, *EIN2*, *EIN3* y *CTR1* se ha determinado por el análisis de cómo las mutaciones interactúan unas con otras (es decir, el orden epistático). Se cruzaron dos mutantes con fenotipos opuestos y se identificó la línea que contenía ambas mutaciones (el doble mutante) como la generación F_2. En el caso de los mutantes de respuesta al etileno, los investigadores construyeron una línea doblemente mutante para *ctr1*, un mutante constitutivo del etileno, y una de las mutaciones insensibles al etileno.

El fenotipo que presenta el doble mutante revela que una mutación es epistática a otra. Por ejemplo, si el doble mutante *etr1/ctr1* tiene el fenotipo *ctr1*, se dice que la mutación *ctr1* es epistática a *etr1*. Por ello, puede deducirse que CTR1 actúa corriente abajo de ETR1 (Avery y Wasserman 1992). En este sentido, se determinó el orden de acción de *ETR1*, *EIN2* y *EIN3* respecto de *CTR1*.

Se ha demostrado que la proteína ETR1 interactúa físicamente con la proteína predicha corriente abajo, CTR1, sugiriendo que los receptores del etileno pueden regular directamente la actividad quinasa de CTR1 (Clark y col. 1998). El modelo de la figura 22.16 resume estos y otros datos. En otras especies se han encontrado genes similares a varios genes de señalización de *Arabidopsis* (véase el **tema web 22.6**).

Este modelo está todavía incompleto debido a que se han identificado otras mutaciones que actúan en esta ruta. Además, sólo estamos en el principio de la comprensión de las propiedades bioquímicas de estas proteínas y de cómo interactúan. No obstante, estamos empezando a dilucidar las bases moleculares de la percepción y transducción de esta señal hormonal.

RESUMEN

El etileno se forma en la mayoría de los órganos de las plantas superiores. Los tejidos senescentes y los frutos en maduración producen más etileno que los tejidos jóvenes o maduros. El precursor del etileno *in vivo* es el aminoácido metionina que es convertido a SAM (S-adenosilmetionina), ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico) y etileno. El paso limitante en esta ruta es la conversión de SAM a ACC, que está catalizado por el enzima ACC sintasa. La ACC sintasa está codificada por una familia multigénica que está regulada diferencialmente en los diferentes tejidos vegetales en respuesta a los distintos inductores de la biosíntesis del etileno.

La biosíntesis del etileno es inducida por numerosos procesos del desarrollo, por las auxinas y por los estreses ambientales. En todos los casos, aumenta el nivel de RNAm de la ACC sintasa. Los efectos fisiológicos del etileno se pueden bloquear por inhibidores biosintéticos o por antagonistas. El AVG (aminoetoxivinilglicina) y el AOA (ácido aminooxiacético) inhiben la síntesis del etileno; el dióxido de carbono, los iones plata, el *trans*-cicloocteno y el MCP inhiben la acción del etileno. El etileno puede ser detectado y cuantificaado por cromatografía de gases.

El etileno regula la maduración de frutos y otros procesos asociados a la senescencia de hojas y flores, la abscisión de la hoja y del fruto, el crecimiento de plántulas y la apertura del gancho apical. El etileno también regula la expresión de numerosos genes, como los relacionados con la maduración y la patogénesis.

El receptor del etileno está codificado por una familia de genes que codifican proteínas similares al sistema bacteriano histidina quinasa de dos componentes. El etileno se une a estos receptores en un dominio transmembrana a través de un cofactor de cobre. Los componentes de la cadena de transducción de señal incluyen CTR1, un miembro de la familia de las proteína quinasas RAF; y EIN2, una proteína transmembrana tipo canal. La ruta activa una cascada de factores de transcripción, que incluye las familias EIN3 y EREBP, que modulan la expresión génica.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

22.1 La clonación de la ACC sintasa

Se describe brevemente la clonación del gen de la ACC sintasa usando anticuerpos dirigidos contra la proteína parcialmente purificada.

22.2 La clonación del gen de la ACC oxidasa

El gen de la ACC oxidasa fue clonado por una ruta indirecta usando un DNA antisentido.

22.3 La expresión y biotecnología del gen ACC sintasa

Un breve análisis de la utilización del gen de la ACC sintasa en biotecnología.

22.4 La abscisión y el amanecer de la agricultura

Un breve ensayo sobre los cereales modernos de uso cotidiano basado en una selección artificial de caquis contundentes.

22.5 La unión del etileno a ETR1 y la respuesta de la plántula al etileno

La unión del etileno a su receptor ETR1 se demostró primero por la expresión del gen en levadura.

22.6 La conservación de los componentes de la ruta de señalización del etileno en otras especies vegetales

La evidencia sugiere que la señalización del etileno es similar en todas las especies vegetales.

Hoffman N. E. y Yang S. F. (1980) Changes of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid content in ripening fruits in relation to their ethylene production rates. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 105: 492–495.

Hua J. y Meyerowitz E. M. (1998) Ethylene responses are negatively regulated by a receptor gene family in *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 94: 261–271.

Kieber J. J., Rothenburg M., Roman G., Feldmann K. A. y Ecker J. R. (1993) CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in *Arabidopsis*, encodes a member of the Raf family of protein kinases. *Cell* 72: 427–441.

Lanahan M., Yen H.-C., Giovannoni J. y Klee H. (1994) The *Never-ripe* mutation blocks ethylene perception in tomato. *Plant Cell* 6: 427–441.

Lehman A., Black R. y Ecker J. R. (1996) *Hookless1*, an ethylene response gene, is required for differential cell elongation in the *Arabidopsis* hook. *Cell* 85: 183–194.

Liang X., Abel S., Keller J., Shen N. y Theologis A. (1992) The 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene family of *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 11046–11050.

McKeon T. A., Fernández-Maculet J. C. y Yang S. F. (1995) Biosynthesis and metabolism of ethylene. En *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, 2ª ed., P. J. Davies, ed., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 118–139.

Morgan P. W. (1984) Is ethylene the natural regulator of abscission? In *Ethylene: Biochemical, Physiological and Applied Aspects*, Y. Fuchs y E. Chalutz, eds., Martinus Nijhoff, The Hague, Netherlands, págs. 231–240.

Nakagawa J. H., Mori H., Yamazaki K. e Imaseki H. (1991) Cloning of the complementary DNA for auxin-induced 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase and differential expression of the gene by auxin and wounding. *Plant Cell Physiol.* 32: 1153–1163.

Oeller P., Min-Wong L., Taylor L., Pike D. y Theologis A. (1991) Reversible inhibition of tomato fruit senescence by antisense RNA. *Science* 254: 437–439.

Ohme-Takagi M. y Shinshi H. (1995) Ethylene-inducible DNA binding proteins that interact with an ethylene-responsive element. *Plant Cell* 7: 173–182.

Olson D. C., White J. A., Edelman L., Harkins R. N. y Kende H. (1991) Differential expression of two genes for 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase in tomato fruits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88: 5340–5344.

Perovic S., Seack J., Gamulin V., Müller W. E. G. y Schröder H. C. (2001) Modulation of intracellular calcium and proliferative activity of invertebrate and vertebrate cells by ethylene. *BMC Cell Biol.* 2: 7.

Raskin I. y Beyer E. M., Jr. (1989) Role of ethylene metabolism in *Amaranthus retroflexus*. *Plant Physiol.* 90: 1–5.

Reid M. S. (1995) Ethylene in plant growth, development and senescence. En *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, 2ª ed., P. J. Davies, ed., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 486–508.

Rodriguez F. I., Esch J. J., Hall A. E., Binder B. M., Schaller E. G. y Bleecker A. B. (1999) A copper cofactor for the ethylene receptor ETR1 from *Arabidopsis*. *Science* 283: 396–398.

Sexton R., Burdon J. N., Reid J. S. G., Durbin M. L. y Lewis L. N. (1984) Cell wall breakdown and abscission. En *Structure, Function, and Biosynthesis of Plant Cell Walls*, W. M. Dugger y S. Bartnicki-Garcia, eds., American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, págs. 383–406.

Sisler E. C. y Serek M. (1997) Inhibitors of ethylene responses in plants at the receptor level: Recent developments. *Physiol. Plant.* 100: 577–582.

Sisler E., Blankenship S. y Guest M. (1990) Competition of cyclooctenes and cyclooctadienes for ethylene binding and activity in plants. *Plant Growth Regul.* 9: 157–164.

Solano R., Stepanova A., Chao Q. y Ecker J. R. (1998) Nuclear events in ethylene signaling: A transcriptional cascade mediated by ETHYLENE-INSENSITIVE3 and ETHYLENE-RESPONSE-FACTOR1. *Gene Dev.* 12: 3703–3714.

Tanimoto M., Roberts K. y Dolan L. (1995) Ethylene is a positive regulator of root hair development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 8: 943–948.

Tatsuki M. y Mori H. (2001) Phosphorylation of tomato 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase, LE-ACS2, at the C-terminal region. *J. Biol. Chem.* 276: 28051–28057.

Voesenek L. A. C. J., Banga M., Rijnders J. H. G. M., Visser E. J. W., Harren F. J. M., Brailsford R. W., Jackson M. B. y Blom C. W. P. M. (1997) Laser-driven photoacoustic spectroscopy: What we can do with it in flooding research. *Ann. Bot.* 79: 57–65.

Vogel J. P., Schuerman P., Woeste K., Brandstatter I. y Kieber J. J. (1998) Isolation and characterization of *Arapidopsis* mutants defective in the induction of ethylene biosynthesis by cytokinin. *Genetics* 149: 417–427.

Woeste K. y Kieber J. J. (2000) A strong loss-of-function allele of *RAN1* results in constitutive activation of ethylene responses as well as a rosette-lethal phenotype. *Plant Cell* 12: 443–455.

Yang S. F. (1987) The role of ethylene and ethylene synthesis in fruit ripening. En *Plant Senescence: Its Biochemistry and Physiology*, W. W. Thomson, E. A. Nothnagel y R. C. Huffaker, eds., American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD, págs. 156–166.

Yuan M., Shaw P. J., Warn R. M. y Lloyd C. W. (1994) Dynamic reorientation of cortical microtubules, from transverse to longitudinal, in living plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 6050–6053.

Zacarias L. y Reid M. S. (1990) Role of growth regulators in the senescence of *Arabidopsis thaliana* leaves. *Physiol. Plant.* 80: 549–554.

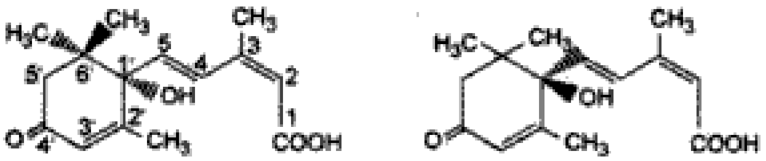
LA PRESENCIA, ESTRUCTURA QUÍMICA Y DETERMINACIÓN DEL ABA

El ácido abscísico es una hormona vegetal omnipresente en todas las plantas vasculares. Se ha detectado también en musgos, pero parece estar ausente en hepáticas (véase el **tema web 23.1**). Varios géneros de hongos producen ABA como metabolito secundario (Milborrow 2001). En la planta, el ABA se ha detectado en todos los principales órganos y tejidos vivos, desde la cofia radical hasta la yema apical. El ABA es sintetizado en casi todas las células que contienen cloroplastos o amiloplastos.

La estructura química del ABA determina su actividad fisiológica

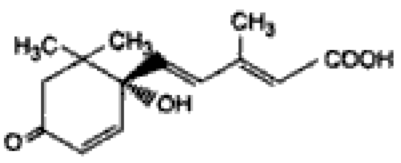
El ABA es un compuesto de 15 carbonos que se parece a la parte terminal de las moléculas carotenoides (Figura 23.1). La orientación del grupo carboxilo en el carbono 2 determina los isómeros *cis* y *trans* del ABA. Prácticamente todo el ABA que se encuentra en la naturaleza es el isómero *cis* y, por convenio, el nombre de ácido abscísico se refiere a este isómero.

El ABA tiene también un átomo de carbono asimétrico en la posición 1' del anillo, que da lugar a los enantiómeros S y R (o + y –, respectivamente). El enantiómero S es la forma natural; el ABA sintético comercialmente disponible es una mezcla que contiene aproximadamente la mitad de cada una de las formas, S y R. El enantiómero S es el único activo en las respuestas rápidas al ABA, como el cierre esto-



(S)-*cis*-ABA (forma activa que se produce naturalmente)

(R)-*cis*-ABA (inactiva en el cierre estomático)



(S)-2-*trans*-ABA (inactiva, pero interconvertible con la forma [cis] activa)

Figura 23.1 Las estructuras químicas de las formas S (sentido contrario a las agujas del reloj) y R (sentido de las agujas del reloj) de *cis*-ABA y la forma (S)-2-*trans* del ABA. Los números en el diagrama del (S)-*cis*-ABA indican los átomos de carbono.

mático. En las respuestas a largo plazo, como la maduración de las semillas, los dos enantiómeros son activos. A diferencia de los isómeros *cis* y *trans*, las formas S y R no pueden interconvertirse en el tejido vegetal.

Estudios sobre las necesidades estructurales para la actividad biológica del ABA han demostrado que cualquier cambio en la molécula da lugar a una pérdida de actividad (véase el **tema web 23.2**).

El ABA se ensaya por métodos biológicos, físicos y químicos

Se ha usado una gran variedad de bioensayos para ABA, incluidos la inhibición del crecimiento del coleóptilo, la germinación o la síntesis de la α-amilasa inducida por GA. Alternativamente, la promoción del cierre estomático y la expresión génica son ejemplos de repuestas inductivas rápidas (véase el **tema web 23.3**).

Los métodos físicos de detección son mucho más fiables que los biológicos debido a su especificidad y conveniencia para el análisis cuantitativo. Las técnicas más ampliamente extendidas se basan en la cromatografía de gases o en la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La cromatografía de gases permite detectar hasta 10^{-13} g de ABA, pero necesita varios pasos previos de purificación que incluyen la cromatografía de capa fina. Los inmunoensayos también son altamente específicos y sensibles.

BIOSÍNTESIS, METABOLISMO Y TRANSPORTE DE ABA

Como con otras hormonas vegetales, los efectos reguladores del ABA dependen de su concentración en el tejido y de la sensibilidad del tejido a la hormona. Los procesos de biosíntesis, catabolismo, compartimentalización y transporte contribuyen a la concentración de la hormona activa en cada tejido en un momento dado del desarrollo. La ruta biosintética completa del ABA se ha determinado con ayuda de los mutantes deficientes en ABA que tienen bloqueada la ruta en pasos específicos.

El ABA se sintetiza a partir de la ruta de los carotenoides

La biosíntesis del ABA tiene lugar en cloroplastos y otros plastos a través de la ruta que se muestra en la figura 23.2. Se han identificado varios mutantes deficientes en ABA con lesiones en etapas específicas de la ruta. Los mutantes muestran fenotipos anómalos que se pueden corregir al aplicar ABA de forma exógena. Por

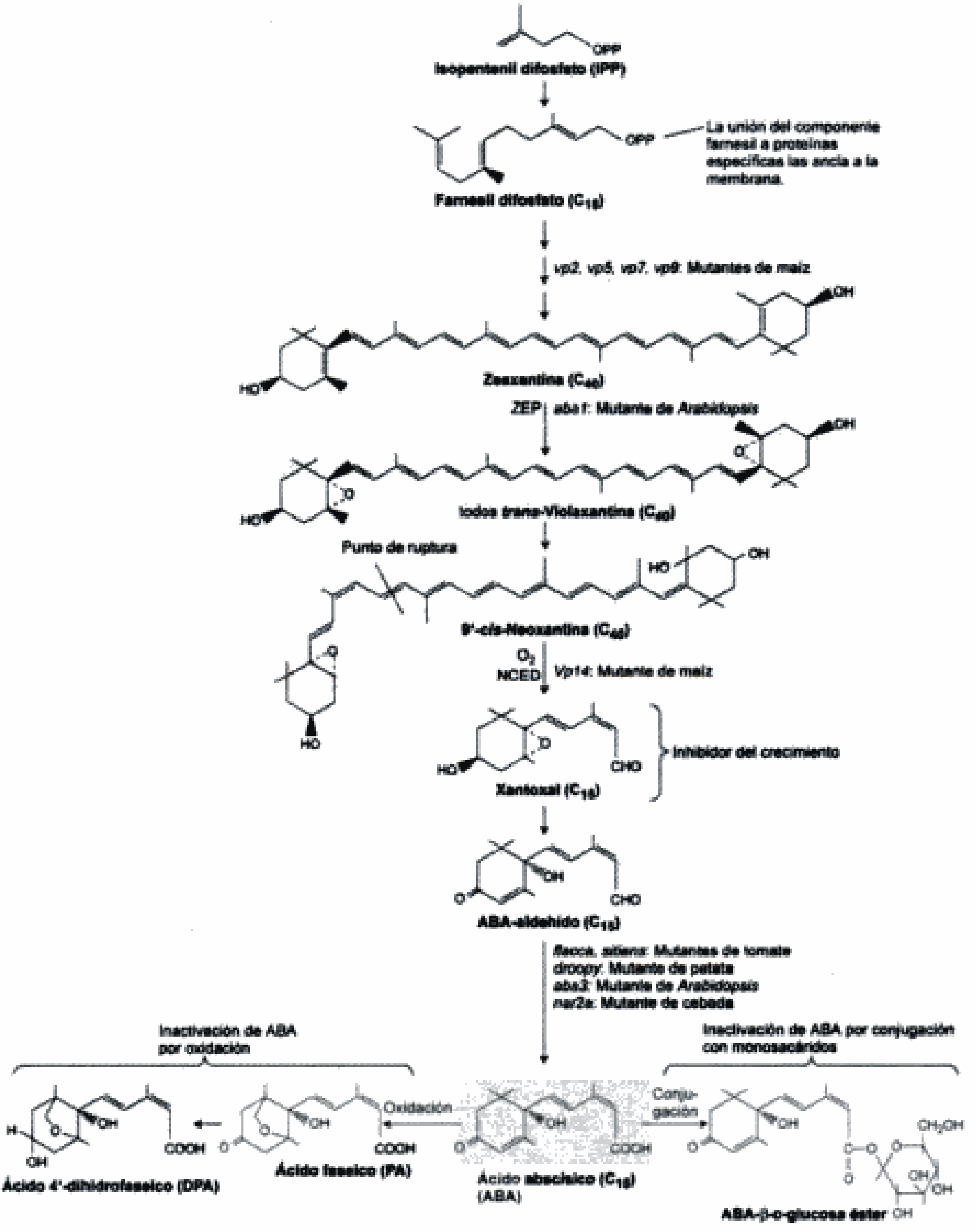

OPP
Isopentenil difosfato (IPP)
OPP
La unión del componente farnesil a proteínas específicas las ancla a la membrana.
Farnesil difosfato (C15)
vp2, vp5, vp7, vp9: Mutantes de maíz
OH
HO
Zeaxantina (C40)
ZEP
aba1: Mutante de Arabidopsis
OH
O
HO
O
todos trans-Violaxantina (C40)
Punto de ruptura
HO
OH
9'-cis-Neoxantina (C40)
O
HO
O2
NCED
Vp14: Mutante de maíz
HO
O
CHO
Xantoxal (C15)
Inhibidor del crecimiento
OH
O
CHO
ABA-aldehído (C15)
flacca, sitiens: Mutantes de tomate
droopy: Mutante de patata
aba2: Mutante de Arabidopsis
nar2a: Mutante de cebada
Inactivación de ABA por oxidación
Inactivación de ABA por conjugación con monosacáridos
H
O
OH
OH
COOH
Ácido 4'-dihidrofaseico (DPA)
O
O
OH
COOH
Ácido faseico (PA)
Oxidación
OH
O
COOH
Ácido abscísico (C15) (ABA)
Conjugación
OH
O
C–O
O
O
CH2OH
OH
OH
OH
ABA-β-D-glucosa éster

Figura 23.2 La biosíntesis y el metabolismo del ABA. En las plantas superiores, el ABA se sintetiza a través de la ruta terpenoide (véase el capítulo 13). Algunos de los mutantes deficientes en ABA que han ayudado al descubrimiento de la ruta se muestran en las etapas que tienen bloqueadas. Las rutas del catabolismo del ABA incluyen la conjugación para formar el éster ABA-β-D-glucosilo o la oxidación para formar el ácido faseico y el ácido dihidrofaseico. ZEP = zeaxantina epoxidasa; NCED = 9-*cis*-epoxicarotenoide dioxigenasa.

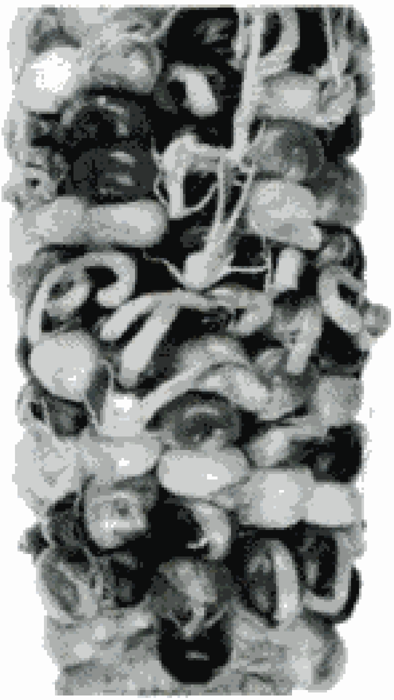


Figura 23.3 Germinación precoz de un mutante *vp14* de maíz deficiente en ABA. La proteína VP14 cataliza la ruptura de los 9-*cis*-epoxicarotenoides para formar xantoxal, un precursor del ABA. (Gentileza de Bao Cai Tan y Don McCarty.)

ejemplo, los mutantes *flacca* (*flc*) y *sitiens* (*sit*) son «mutantes marchitos» de tomate en los que la tendencia de las hojas al marchitamiento (debido a su incapacidad de cerrar los estomas) se puede evitar por la aplicación de ABA exógeno. Los mutantes *aba* de *Arabidopsis* también muestran un fenotipo marchito. Estos y otros mutantes han resultado muy útiles para la determinación de los detalles de la ruta (Milborrow 2001).

La ruta empieza con el isopentenil difosfato (IPP), la estructura biológicamente activa del isopreno, que da lugar a la síntesis de una xantofila C_{40} (es decir, un carotenoide oxigenado), la **violaxantina** (véase la figura 23.2). La síntesis de la violaxantina está catalizada por una zeaxantina epoxidasa (ZEP), el enzima codificado por el locus *AB1* de *Arabidopsis*. Este descubrimiento aportó la evidencia concluyente de que la síntesis del ABA se produce por la ruta «indirecta» o de los carotenoides, más que a partir de una molécula pequeña. Los mutantes de maíz (*vp*) que tienen bloqueada la ruta de los carotenoides en otras etapas tienen niveles reducidos de ABA y muestran **viviparidad** (la germinación precoz de las semillas del fruto cuando todavía están unidas a la planta [figura 23.3]). La viviparidad es una característica de muchas semillas deficientes en ABA.

La violaxantina es convertida a un compuesto C_{40}, la **9'-*cis*-neoxantina**, que se rompe para formar el compuesto de 15 carbonos **xantoxal**, anteriormente conocido como *xantoxina*, un inhibidor del crecimiento neutro que tiene propiedades fisiológicas similares a las del ABA. La ruptura está catalizada por la **9-*cis*-epoxicarotenoide dioxigenasa (NECD)**, llamada así porque puede romper tanto la 9-*cis*-violaxantina como la 9'-*cis*-neoxantina.

La síntesis de NCED se induce rápidamente por el estrés hídrico, lo que sugiere que la reacción catalizada es un paso regulador clave para la síntesis de ABA. El enzima está localizado en los tilacoides, donde se encuentra el sustrato carotenoide. Finalmente, el xantoxal es convertido en ABA a través de etapas oxidativas que implican el(los) intermediario(s) **ABA-aldehído** y/o, posiblemente, el ácido xantóxico. La etapa final está catalizada por una familia de aldehído-oxidasas que necesitan molibdeno como cofactor; los mutantes *aba3* de *Arabidopsis* carecen de un cofactor funcional de molibdeno y son, por tanto, incapaces de sintetizar ABA.

Las concentraciones de ABA en los tejidos son altamente variables

La biosíntesis y las concentraciones de ABA pueden variar drásticamente en tejidos específicos durante el desarrollo o en respuesta a condiciones ambientales cambiantes. En semillas en desarrollo, por ejemplo, los niveles de ABA pueden aumentar hasta 100 veces en unos pocos días y pueden reducirse a niveles mínimos a medida que avanza la maduración. En condiciones de estrés hídrico, el ABA en las hojas puede aumentar 50 veces en un período de 4 a 8 horas. Tras la rehidratación, el nivel de ABA se reduce a los niveles normales en el mismo período de tiempo.

La biosíntesis no es el único factor que regula las concentraciones en el tejido. Como otras hormonas vegetales, la concentración de ABA libre en el citosol está también regulada por degradación, compartimentalización, conjugación y transporte. Por ejemplo, el ABA citosólico aumenta durante el estrés hídrico como resultado de la síntesis en la hoja, la redistribución en la célula del mesofilo, la importación desde las raíces y la recirculación desde otras hojas. La concentración de ABA disminuye tras la rehidratación debido a la degradación y exportación desde la hoja y a un descenso en la velocidad de síntesis.

El ABA puede ser inactivado por oxidación o conjugación

Una de las principales causas de inactivación del ABA es la oxidación, que da lugar a la formación de un intermediario inestable, el 6-hidroximetil-ABA, que se convierte rápidamente en **ácido faseico** (PA) y **ácido dihidrofaseico** (DPA) (véase la figura 23.2). El PA normalmente es inactivo, o muestra una actividad muy reducida, en bioensayos. No obstante, el PA puede inducir el cierre estomático en algunas especies y es tan activo como el ABA en la inhibición de la producción de α-amilasa inducida por ácido giberélico en la capa de aleurona de cebada. Estos efectos sugieren que el PA puede ser capaz de unirse a receptores ABA. A diferencia del PA, el DPA no tiene una actividad detectable en ninguno de los bioensayos probados.

El ABA libre también es inactivado por la conjugación, covalente a otras moléculas, como los monosacáridos. Un ejemplo común de ABA conjugado es el éster **β-D-glucosil-ABA** (**ABA-GE**). La conjugación no sólo inactiva la actividad hormonal del ABA, sino que, además, altera su polaridad y su distribución celular. Mientras que el ABA libre se localiza en el citosol, el ABA-GE se acumula en las vacuolas y podría ser, por tanto, una forma de reserva de la hormona.

Las esterasas de las células vegetales podrían liberar ABA libre a partir de la forma conjugada. Sin embargo, no hay evidencias de que la hidrólisis del ABA-GE contribuya a un aumento rápido del ABA en la hoja durante el estrés hídrico. Cuando las plantas se someten a una serie de ciclos de estrés hídrico y rehidratación, la concentración de ABA-GE aumenta hasta un estado estacionario, lo que sugiere que la forma conjugada no se rompe durante el estrés hídrico.

El ABA se transporta por el tejido vascular

El ABA se transporta por el xilema y por el floema, pero es mucho más abundante en la savia del floema. Cuando se aplica ABA radiactivo a una hoja, se observa su transporte hacia la parte alta del tallo y hacia las raíces. La mayoría del ABA radiactivo se encuentra en las raíces en 24 horas. La destrucción del floema mediante el anillado del tallo evita la acumulación de ABA en las raíces, lo que indica que la hormona se transporta por la savia del floema.

El ABA sintetizado en las raíces también puede ser transportado al tallo a través del xilema. Mientras que la concentración de ABA en la savia del xilema de plantas de girasol bien regadas está entre 1,0 y 15,0 nM, la concentración de ABA en plantas de girasol estresadas aumenta hasta 3 000 nM (3,0 µM) (Schurr y col. 1992). La magnitud del cambio en el contenido de ABA del xilema varía mucho según las especies. Se ha sugerido que el ABA también es transportado en la forma conjugada, y liberado posteriormente por hidrólisis en las hojas. Sin embargo, las hidrolasas postuladas todavía no han sido identificadas.

A medida que el estrés hídrico aumenta, las raíces que están en contacto directo con el suelo seco sintetizan ABA y lo envían a la parte aérea vía xilema. Como este transporte se puede producir antes de que el bajo potencial hídrico del suelo produzca cualquier cambio cuantificable en el estado hídrico de las hojas, se cree que el ABA es una señal radical que ayuda a reducir la velocidad de transpiración, cerrando los estomas en las hojas (Davies y Zhang 1991).

Aunque una concentración de 3,0 µM de ABA en el apoplasto es suficiente como para cerrar los estomas, no todo el ABA de la corriente xilemática llega a las células guarda. Una gran parte del ABA de la corriente de transpiración es metabolizada por las células del mesofilo. No obstante, durante las primeras etapas del estrés hídrico, el pH de la savia del xilema se hace más alcalino, aumentando desde un pH de 6,3 a un pH de 7,2 (Wilkinson y Davies 1997).

El principal punto de control de la distribución de ABA entre los compartimentos de la célula vegetal se basa en el concepto de «trampa aniónica»: La forma disociada (anión) de este ácido débil se acumula en los compartimentos alcalinos y puede ser redistribuido de acuerdo con lo pronunciados que sean los gradientes de pH a través de las membranas. Además del reparto de acuerdo con el pH relativo de los compartimentos, las proteínas transportadoras específicas contribuyen

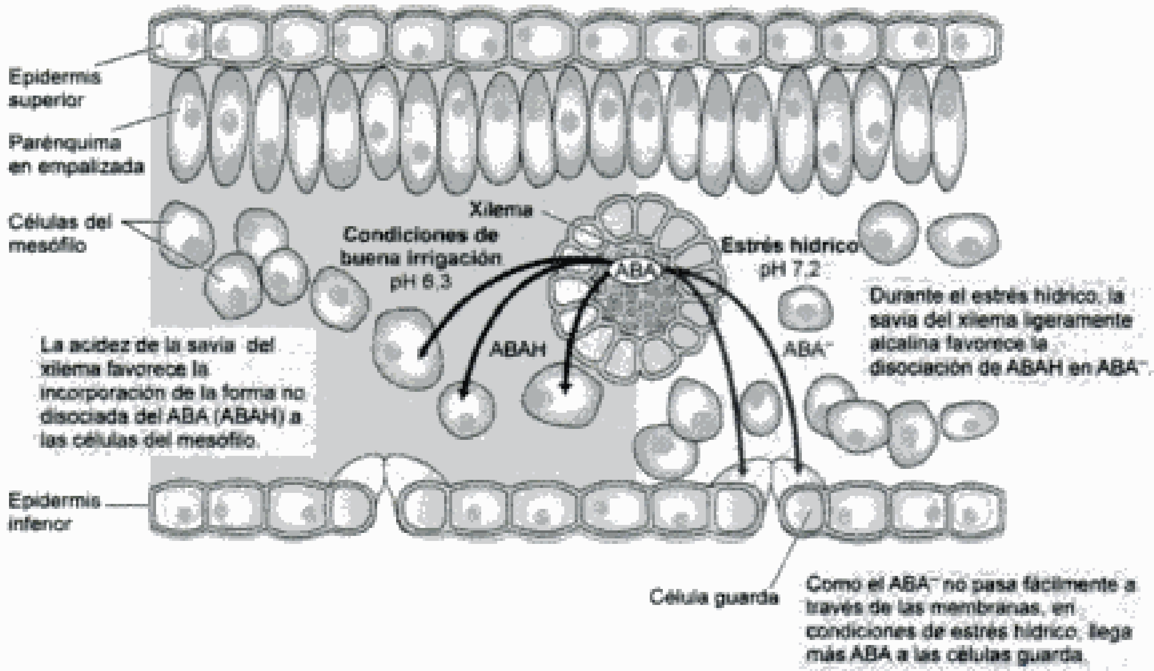

Epidermis superior
Parénquima en empalizada
Células del mesófilo
Xilema
Condiciones de buena irrigación pH 6,3
ABA
Estrés hídrico pH 7,2
Durante el estrés hídrico, la savia del xilema ligeramente alcalina favorece la disociación de ABAH en ABA⁻.
La acidez de la savia del xilema favorece la incorporación de la forma no disociada del ABA (ABAH) a las células del mesófilo.
ABAH
ABA⁻
Epidermis inferior
Célula guarda
Como el ABA⁻ no pasa fácilmente a través de las membranas, en condiciones de estrés hídrico, llega más ABA a las células guarda.

Figura 23.4 La redistribución del ABA en la hoja da lugar a la alcalinización de la savia del xilema durante el estrés hídrico.

al mantenimiento de una baja concentración apoplástica de ABA en plantas no estresadas.

La alcalinización inducida por estrés del apoplasto favorece la formación de la forma disociada del ácido abscísico, ABA^-, que no atraviesa fácilmente la membrana. Por tanto, entra menos ABA en las células del mesofilo y llega más a las células guarda a través de la corriente de transpiración (Figura 23.4). Nótese que el ABA es redistribuido en la hoja por esta ruta sin un aumento del nivel total de ABA. El aumento del pH en la savia del xilema puede funcionar como una señal radical que promueve el cierre temprano de los estomas.

EFECTOS DEL ABA SOBRE LA FISIOLOGIA Y EL DESARROLLO

El ácido abscísico actúa principalmente regulando el inicio y el mantenimiento de la dormición de semillas y yemas y en la respuesta al estrés, sobre todo al estrés hídrico. Además, el ABA influye en otros aspectos del desarrollo, interactuando, normalmente como antagonista de auxinas, citoquininas, giberelinas, etileno y brasinosteroides. En esta sección revisaremos los diversos efectos fisiológicos del ABA, empezando por su función en el desarrollo de la semilla.

niveles endógenos de ABA altos. Estos mRNA codifican proteínas llamadas **LEA**, llamadas así por su **abundancia en la embriogénesis tardía** (del inglés *late-embryogenesis-abundant*, abundancia en la embriogénesis tardía), que parecen estar implicadas en la tolerancia a la desecación. La síntesis de muchas proteínas LEA, o miembros relacionados de la familia, se induce tratando embriones jóvenes o tejidos vegetativos con ABA. Así, la síntesis de la mayoría de las proteínas LEA está bajo el control del ABA (véase el **tema web 23.4**).

Durante la embriogénesis, el ABA induce la acumulación de proteínas de reserva en la semilla

Los compuestos de reserva se acumulan durante las fases tardías de la embriogénesis. Como los niveles de ABA son todavía altos, la hormona podría afectar al transporte de azúcares y aminoácidos, a la síntesis de materiales de reserva, o a ambos procesos.

Los estudios en mutantes que fallan tanto en la síntesis de ABA como en su respuesta demostraron que el ABA no altera el transporte de azúcares. Por el contrario, el ABA parece afectar a la cantidad y composición de las proteínas de reserva. Por ejemplo, el ABA exógeno promueve la acumulación de proteínas de reserva en embriones cultivados de muchas especies y algunos mutantes deficientes o insensibles al ABA tienen reducida la acumulación de dichas proteínas. Sin embargo, la síntesis de proteínas de reserva está reducida también en otras semillas mutantes que mantienen los niveles de ABA y la respuesta a la hormona, lo que indica que el ABA sólo es una de las distintas señales que controla la expresión de los genes de proteínas de reserva durante la embriogénesis.

El ABA no sólo regula la acumulación de proteínas de reserva durante la embriogénesis; también puede mantener el embrión maduro en un estado durmiente mientras las condiciones ambientales no sean óptimas para el crecimiento. La dormición de la semilla es un factor importante en la adaptación de las plantas a entornos desfavorables. Como analizaremos en las próximas secciones, las plantas, al evolucionar, han desarrollado una variedad de mecanismos, algunos de los cuales implican al ABA, que les permiten mantener sus semillas en un estado latente.

La dormición de la semilla puede estar impuesta por la cubierta o por el embrión

Durante la maduración de la semilla, el embrión entra en una fase quiescente en respuesta a la desecación. La germinación de la semilla se puede definir como una recuperación del crecimiento del embrión de la semilla madura y depende de las mismas condiciones ambientales de las que depende el crecimiento vegetativo. Debe haber agua y oxígeno disponibles, la temperatura debe ser la adecuada y no debe haber sustancias inhibidoras presentes.

En muchos casos, una semilla viable (y, por tanto, viva) no germinará incluso aunque se den todas las condiciones ambientales necesarias para el crecimiento. Este fenómeno se denomina **dormición de la semilla**. La dormición retrasa el proceso de germinación y proporciona a la semilla un tiempo adicional para que pueda ser dispersada a grandes distancias. También incrementa la supervivencia de las plántulas al evitar la germinación en condiciones desfavorables. Se pueden definir dos tipos de dormición: la que induce la cubierta y la del embrión.

La dormición impuesta por la cubierta. La dormición del embrión impuesta por la cubierta de la semilla y otros tejidos que la encierran, como el endospermo, el pericarpo u órganos extraflorales, se conoce como **dormición impuesta por la cubierta**. Los embriones de tales semillas germinarán rápidamente en presencia de agua y oxígeno, una vez que la cubierta de la semilla y los tejidos que la rodean hayan sido eliminados o dañados. Hay cinco mecanismos básicos de dormición impuesta por la cubierta:

1. *Prevención de la incorporación de agua.*
2. *Constricción mecánica.* El primer signo visible de la germinación normalmente es la ruptura de la radícula a través de la cubierta de la semilla. En algunos casos, no obstante, la cubierta de la semilla puede ser demasiado rígida como para que la radícula pueda traspasarla. Para que las semillas germinen, las paredes del endospermo deben debilitarse por la producción de enzimas que degradan de la pared celular.
3. *Interferencias para el intercambio gaseoso.* La reducida permeabilidad de las cubiertas de las semillas al oxígeno sugiere que dicha cubierta inhibe la germinación al limitar el aporte de oxígeno al embrión.
4. *Retención de inhibidores.* La cubierta de la semilla puede evitar la pérdida de inhibidores de la ésta.
5. *Producción de inhibidores.* Las cubiertas de las semillas y los pericarpos pueden contener concentraciones relativamente altas de inhibidores del crecimiento, incluido el ABA, que pueden suprimir la germinación del embrión.

La dormición del embrión. El segundo tipo de dormición de semilla es la **dormición del embrión,** una dormición que es intrínseca al embrión y no se debe a ninguna influencia de la cubierta de la semilla o de los tejidos que la rodean. En algunos casos, la dormición del embrión se puede eliminar por la amputación de los cotiledones. Algunas especies en las que los cotiledones ejercen un efecto inhibidor son el avellano europeo (*Corylus avellana*) y el fresno europeo (*Fraxinus excelsior*).

Una demostración de la fascinante capacidad del cotiledón de inhibir el crecimiento se encuentra en algunas especies (por ejemplo, el melocotonero) en las que los embriones durmientes aislados germinan, pero crecen muy lentamente y desarrollan una planta enana. Si se eliminan los cotiledones en las primeras etapas del desarrollo, el patrón de crecimiento se modifica bruscamente dando lugar a plantas normales.

Se cree que la dormición del embrión es debida a la presencia de inhibidores, especialmente ABA, así como a la ausencia de promotores del crecimiento, como GA (ácido giberélico). La pérdida de la dormición del embrión suele estar asociada al brusco descenso de la relación entre ABA y GA.

La dormición primaria de la semilla frente a la secundaria. Los diferentes tipos de semillas latentes se pueden clasificar según el tiempo de inicio de la dormición, más que por la causa de ésta:

- Las semillas que se separan de la planta en un estado latente se dice que presentan **dormición primaria**.
- Las semillas que se separan de la planta en un estado no durmiente, pero que llegan a ser durmientes si las condiciones de germinación son desfavorables, muestran **dormición secundaria**. Por ejemplo, las semillas de *Avena sativa* (avena) pueden entrar en dormición en presencia de temperaturas superiores a las del máximo de germinación, mientras que las semillas de *Phacelia dubia* (pequeña flor de facelia) pueden entrar en dormición a temperaturas inferiores a las del mínimo de germinación. Los mecanismos de la dormición secundaria se conocen muy poco.

Los factores ambientales controlan la liberación de la dormición de la semilla

Varios factores externos liberan a la semilla de la dormición del embrión, mientras que las semillas latentes normalmente responden a más de uno de estos factores:

1. *Postmaduración*. Muchas semillas pierden la dormición cuando, por secado, se reduce la humedad interior a ciertos niveles, un fenómeno conocido como **postmaduración**.
2. *Las bajas temperaturas* pueden hacer que las semillas salgan de la dormición. Muchas semillas necesitan un período de frío (0-10 °C) en un estado totalmente hidratado (embebido), para germinar.

equilibrio entre los inhibidores del crecimiento, como el ABA, y las sustancias inductoras del crecimiento, como citoquininas y giberelinas.

Aunque se ha avanzado mucho en el conocimiento de la función del ABA en la dormición de la semilla mediante el uso de mutantes deficientes en ABA, el avance en la función del ABA en la dormición de la yema, que ocurre fundamentalmente en leñosas perennes, se ha retrasado debido a la carencia de un sistema genético adecuado. Esta discrepancia ilustra la tremenda contribución de la genética y la biología molecular en el desarrollo de la fisiología, y subraya la necesidad de extender dichas aproximaciones a las especies leñosas.

Los análisis de caracteres como la dormición son complicados por el hecho de que, con frecuencia, están controlados por la acción combinada de varios genes, lo que da lugar a una gradación de fenotipos a los que se suele referir como *caracteres cuantitativos*. Los recientes estudios de mapeo genético sugieren que homólogos de *ABI1* pueden regular la dormición de la yema en chopos. Para una descripción de dichos estudios, véase el **tema web 23.7**.

El ABA inhibe la producción de enzimas inducidos por GA

El ABA inhibe la síntesis de los enzimas hidrolíticos que son esenciales para la ruptura de las reservas almacenadas en la semilla. Por ejemplo, el GA estimula la capa de aleurona de los cereales a producir α-amilasa y otros enzimas hidrolíticos que catalizan la ruptura de compuestos de reserva en el endospermo durante la germinación (véase el capítulo 20). El ABA inhibe la síntesis del enzima dependiente de GA al inhibir la transcripción de los mRNA de la α-amilasa. El ABA ejerce este efecto inhibidor al menos por dos mecanismos:

1. VP1, una proteína inicialmente descrita como una activadora de la expresión de genes inducidos por ABA, que actúa como un represor transcripcional de algunos genes regulados por GA (Hoecker y col. 1995).
1. El ABA reprime GA-MYB, un factor de transcripción cuya expresión es inducida por GA y que actúa como intermediario en la inducción por GA de la α-amilasa (Gomez-Cadenas y col. 2001)

El ABA cierra los estomas en respuesta al estrés hídrico

El descubrimiento de las funciones del ABA en los estreses por congelación, salinidad e hidratación (véase el capítulo 25) ha permitido la caracterización del ABA como la hormona del estrés. Como señalamos anteriormente, en condiciones de sequía las concen-

Por tanto, a altos potenciales hídricos (cuando el nivel total de ABA es bajo), el ABA endógeno ejerce un efecto ligeramente positivo sobre el crecimiento de tallos y raíces.

En condiciones de deshidratación, no obstante, el crecimiento de las raíces es mucho mayor en el tipo silvestre que en el mutante deficiente en ABA, aunque el crecimiento de la raíz está en ambos casos inhibido respecto al crecimiento radical del mismo genotipo cuando el agua es abundante. En este caso, el ABA endógeno promueve el crecimiento radical, aparentemente por inhibición de la producción de etileno durante el estrés hídrico (Spollen y col. 2000).

Para resumir, en condiciones de deshidratación, cuando los niveles de ABA son altos, la hormona endógena ejerce un fuerte efecto positivo sobre el crecimiento radical suprimiendo la producción de etileno, y un efecto ligeramente negativo sobre el crecimiento del tallo. El efecto global es un dramático aumento de la relación raíz/tallo a bajos potenciales hídricos (véase la figura 23.6C), que, junto con el efecto del ABA en el cierre estomático, ayuda a la planta a convivir con el estrés hídrico. Para otro ejemplo de la función del ABA en la respuesta a la deshidratación, véase el **ensayo web 23.1**.

El ABA promueve la senescencia de la hoja independientemente del etileno

El ácido abscísico se aisló inicialmente como un factor causante de la abscisión. Sin embargo, desde entonces se ha hecho evidente que el ABA estimula la abscisión de órganos en sólo unas pocas especies y que la hormona principal que provoca la abscisión es el etileno. Por otro lado, el ABA está claramente implicado en la senescencia de la hoja y a través de dicha senescencia podría aumentar de forma indirecta la producción de etileno y estimular la abscisión. (Para un análisis más detallado sobre la relación entre el ABA y el etileno, véase el **tema web 23.8.**)

La senescencia de la hoja se ha estudiado extensamente, y los cambios anatómicos, fisiológicos y bioquímicos que tienen lugar durante este proceso se describen en el capítulo 16. Los segmentos de hoja experimentan la senescencia más rápidamente en oscuridad que en presencia de luz y se vuelven amarillos como resultado de la degradación de la clorofila. Además, se aumenta la degradación de proteínas y de ácidos nucleicos al estimular varias hidrolasas. El ABA acelera muchísimo la senescencia de los segmentos de hojas y de las hojas intactas.

MECANISMOS CELULARES Y MOLECULARES DE LA ACCIÓN DEL ABA

El ABA está implicado en efectos fisiológicos a corto plazo (por ejemplo, el cierre estomático), así como en procesos de desarrollo a largo plazo (por ejemplo, la maduración de semillas). Las respuestas fisiológicas rápidas suelen implicar alteraciones en los flujos de iones a través de las membranas y pueden también conllevar cierta regulación génica. Inevitablemente, los procesos a largo plazo implican cambios muy importantes en el patrón de expresión génica.

Las rutas de transducción de señal, que amplifican la señal primaria generada cuando la hormona se une a su receptor, son necesarias para los efectos del ABA a corto y a largo plazo. Los estudios genéticos han demostrado que existen muchos componentes de señalización comunes en ambos tipos de respuestas, lo que indica que los mecanismos de señalización pueden ser comunes. En esta sección se describirá lo que se conoce sobre el mecanismo de acción del ABA a nivel celular y molecular.

El ABA se percibe extracelular e intracelularmente

Aunque se ha demostrado que el ABA interactúa directamente con los fosfolípidos, se supone que el receptor del ABA es una proteína. No obstante, hasta la fecha este receptor proteico no se ha identificado. Se han llevado a cabo experimentos para determinar si la hormona debe entrar en la célula para ser efectiva, o si puede actuar externamente por unión a un receptor localizado en la superficie exterior de la membrana plasmática. Los resultados sugieren que existen múltiples sitios de percepción.

Algunos experimentos señalan a un receptor en la superficie exterior de la célula. Por ejemplo, el ABA microinyectado es incapaz de abrir los estomas en *Commelina*, o de inhibir la síntesis de α-amilasa inducida por GA en protoplastos de aleurona de cebada (Anderson y col. 1994; Gilroy y Jones 1994). Más aún, se ha demostrado que los conjugados impermeables ABA-proteína activan la actividad de los canales iónicos y la expresión génica (Schultz y Quatrano 1997; Jeannette y col. 1999).

Otros experimentos, no obstante, apoyan una localización intracelular del receptor de ABA:

- La aplicación extracelular de ABA es dos veces más efectiva en la inhibición de la apertura estomática a pH 6,15, cuando está totalmente protonado y se incorpora fácilmente en las células guarda, que a pH 8, cuando se encuentra disociado en la forma iónica que no puede cruzar la membrana (Anderson y col. 1994).
- El ABA aportado directa y continuamente al citosol mediante la técnica de la «*patch pipette*» inhibe los canales de entrada de K^+, que son necesarios para la apertura estomática (Schwzrtz y col. 1994).
- La microinyección de una forma inactiva de ABA conjugada en las células guarda de *Commelina* da lugar al cierre estomático después de que los estomas

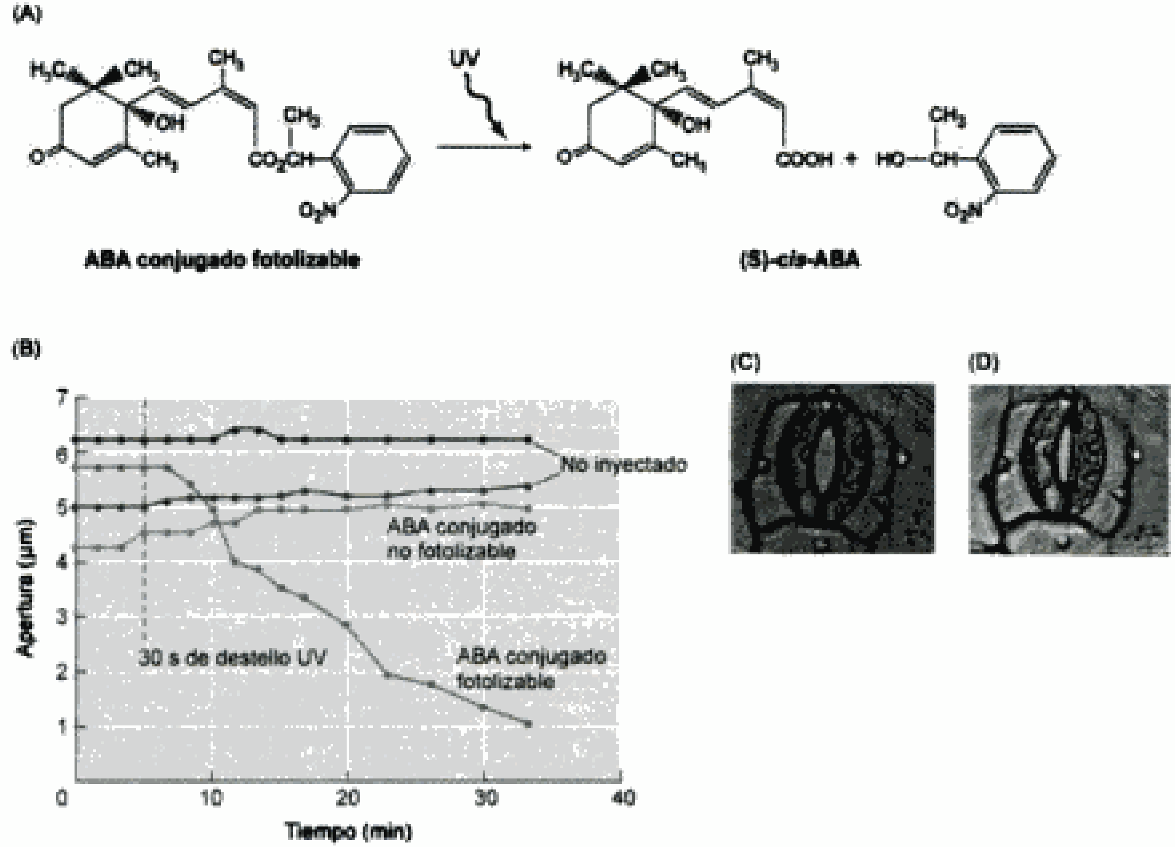


Figura 23.7 Cierre estomático inducido por la fotólisis UV del ABA conjugado en el citoplasma de la célula guarda. Se microinyectó ABA conjugado en una única célula guarda de los complejos estomáticos de *Commelina*. (A) Reacción de fotólisis inducida por radiación UV. (B) Aperturas estomáticas registradas antes y después de la exposición de las células a 30 segundos de luz UV. (C, D) Micrografías ópticas del mismo complejo estomático. En la célula guarda de la zona derecha se introdujo el ABA encapsulado fotolizable 10 minutos antes de la fotólisis por UV (C) y 30 minutos después de la fotólisis (D). (A y B de Allen y col. 1994; C y D gentileza de A. Allan, de Allan y col. 1994; © American Society Plant Biologists, reimpreso con permiso.)

sean tratados brevemente con radiación UV para activar la hormona (es decir, que sea liberada de su forma molecular [figura 23.7]) (Allan y col. 1994). Las células control inyectadas con una forma no fotolizable de la molécula de ABA conjugada no cierran los estomas tras la radiación UV.

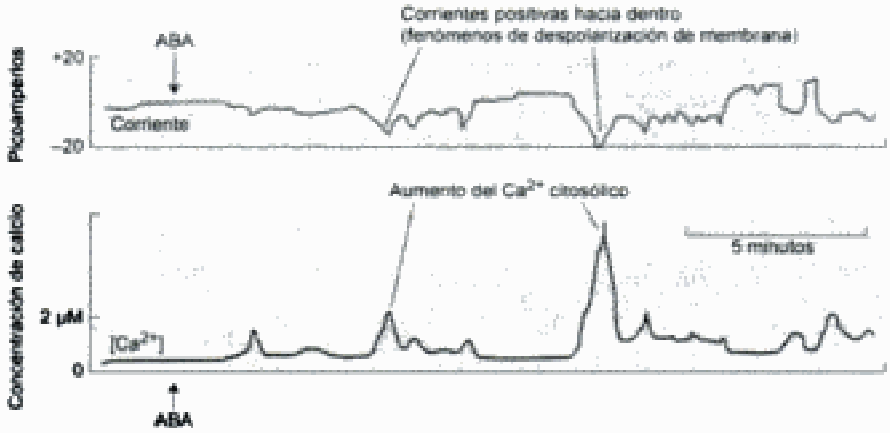
De forma conjunta, estos resultados indican que la percepción extracelular de ABA puede impedir la apertura estomática y regular la expresión génica y el ABA intracelular puede inducir el cierre estomático e inhibir la corriente de entrada de K$^+$ necesaria para su apertura. Así pues, parece ser que existen receptores de ABA tanto extracelulares como intracelulares. No obstante, ninguno de estos receptores se ha identificado o localizado todavía.

El ABA aumenta el Ca^{2+} y el pH citosólico y despolariza la membrana

Como analizamos en el capítulo 18, el cierre estomático se produce por una reducción de la presión de turgencia en la célula debida a una salida masiva y continuada de K^+ y de aniones de la célula. Durante el encogimiento posterior de la célula debido a la pérdida de agua, el área superficial de la membrana plasmática puede contraerse hasta el 50 %. ¿Dónde va esa membrana extra? Parece ser que es incorporada en pequeñas vesículas por endocitosis (un proceso que implica la reorganización del citoesqueleto de actina). Sin embargo, el primer cambio detectable tras la exposición de las células guarda al ABA es una despolarización transitoria de la membrana causada por la entrada de carga positiva, y un aumento transitorio de la concentración citosólica de calcio (Figura 23.8).

El ABA estimula el aumento de la concentración del Ca^{2+} citosólico al inducir tanto la entrada a través de los canales de la membrana como la liberación de calcio al citosol desde los compartimentos internos, como la vacuola central (Schroeder y col. 2001). La estimulación de la entrada se produce a través de una ruta que utiliza **especies reactivas de oxígeno (ROS)**, tales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) o el superóxido ($O_2^{\bullet -}$), como segundos mensajeros que conducen a la activación del canal de la membrana plasmática (Pei y col. 2000).

La liberación de calcio desde los orgánulos intracelulares de reserva puede ser inducida a partir de una gran variedad de segundos mensajeros, como el inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3), la ADP-ribosa cíclica (cADPR) y la propia amplificación del calcio liberado (Ca^{2+} autoinducido). Estudios recientes han demostrado que el ABA estimula la síntesis de **óxido nítrico (NO)** en las células guarda, lo que induce el cierre estomático de alguna forma dependiente de cADPR, indicando que el NO es un po-



El aumento del Ca^{2+} citosólico coincide aproximadamete con los fenómenos de despolarización de membrana.

Figura 23.8 Medición simultánea de las corrientes positivas de entrada inducidas por ABA y el aumento de las concentraciones del Ca^{2+} citosólico inducido por ABA en una célula guarda de *Vicia faba* (haba). La corriente se midió por la técnica del «patch clamp»; el calcio se midió usando un colorante fluorescente. El ABA se añadió al sistema en el momento en que indica la flecha que hay en cada caso.

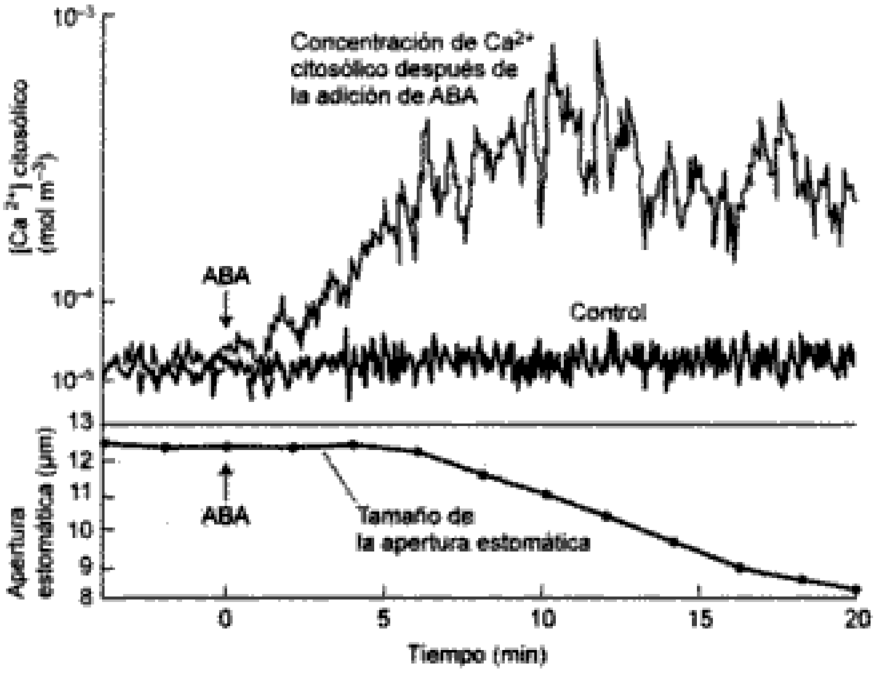


Figura 23.9 Seguimiento del aumento de la concentración de Ca^{2+} citosólico inducido por ABA en la célula guarda (panel superior) y la apertura estomática inducida por ABA (panel inferior). (Según Mansfield y McAinsh 1995.)

sible segundo mensajero temprano en la ruta de respuesta. (Nelly y col. 2002) (para un análisis a fondo del NO, véase el capítulo 14 en la página web).

La combinación de la entrada de calcio y la liberación de calcio de los orgánulos internos de reserva aumenta la concentración citosólica de éste de 50 a 350 nM hasta 1 100 nM (1,1 mM) (Figura 23.9) (Mansfield y McAinsh, en Davis 1995). Este aumento es suficiente para provocar el cierre estomático, como se demuestra en el siguiente experimento.

Como en el experimento descrito anteriormente, se microinyectó calcio en células guarda en forma conjugada, de modo que pudieran ser hidrolizadas por un pulso de luz UV. Este método permitió a los investigadores controlar tanto la concentración de calcio libre como el momento de su liberación al citosol. A concentraciones citosólicas de 600 nM o superiores, la liberación del calcio desde la forma conjugada iniciaba el cierre estomático (Gilroy y col. 1990). Este nivel de calcio intracelular está en consonancia con el rango de concentraciones observadas tras el tratamiento con ABA.

En los estudios precedentes, el calcio libre intracelular se midió usando la microinyección de colorantes fluorescente radiométricos sensibles al calcio[2], como el

---

[2] Los colorantes fluorescentes radiométricos sufren un cambio en los espectros de excitación y de emisión cuando unen calcio. En función de esta propiedad, uno puede determinar las concentraciones intracelulares de ambas formas del colorante (con y sin calcio unido) excitándolos con dos longitudes de onda adecuadas. La relación de las dos emisiones proporciona una medida de la concentración de calcio que es independiente de la concentración del colorante.

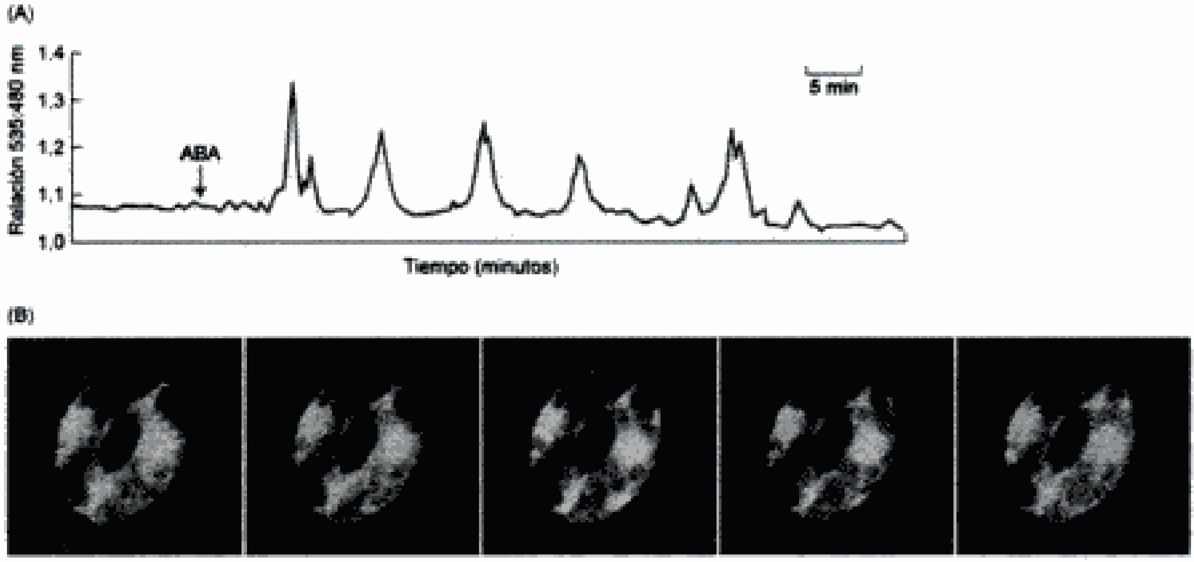


Figura 23.10 Oscilaciones de calcio inducidas por ABA en *Arabidopsis* en células guarda que expresan el amarillo camaleón, un colorante proteico indicador del calcio. (A) Se indican las oscilaciones elicitadas por ABA por aumentos en la emisión de fluorescencia entre 535 y 480 nm. (B) Las imágenes pseudocoloreadas de fluorescencia en las células guarda de *Arabidopsis*, en azul, verde, amarillo y rojo representan el aumento citosólico de la concentración de calcio (Según Schroeder y col. 2001.) (Ver imágenes en color en el CD.)

fura-2 o el indo-1. Sin embargo, las microinyecciones de colorantes fluorescentes en las células vegetales son difíciles y con frecuencia se produce la muerte de la célula. La proporción de éxito en inyecciones viables en *Arabidopsis* es de menos de un 3 %. Por el contrario, las plantas transgénicas que expresan el gen de la proteína indicadora de calcio, **amarillo camaleón**, hacen posible seguir varias células fluorescentes en paralelo, sin necesidad de las inyecciones invasivas (Allen y col. 1999b) (véase el **tema web 23.9**). Tales estudios han demostrado que la concentración de Ca^{2+} citosólico oscila con diferentes periodicidades, en función de las señales recibidas (Figura 23.10).

Estos resultados apoyan la hipótesis de que un aumento del calcio citosólico, procedente de forma parcial de reservas intracelulares, es el responsable del cierre estomático inducido por ABA. No obstante, la hormona del crecimiento (auxina) puede inducir la apertura estomática, y esta apertura, al igual que el cierre estomático inducido por ABA, está acompañada por un *aumento* del calcio citosólico. Este descubrimiento sugiere que las respuestas celulares dependen más de la periodicidad de las oscilaciones de Ca^{2+} (la «firma del Ca^{2+}»), que de la concentración total de calcio citosólico.

Además, al aumentar la concentración de calcio citosólico, el ABA provoca la alcalinización del citosol desde un pH de 7,67 a un pH de 7,94. Se ha demostrado que el aumento del pH citosólico activa la salida de K^+ por los canales de la membrana plasmática, aparentemente por un aumento del número de canales disponibles para la activación (véase el capítulo 6).

La activación de canales aniónicos lentos por ABA provoca la despolarización de la membrana

Las rápidas y transitorias despolarizaciones inducidas por ABA son insuficientes como para abrir los canales de salida de K^+, que requieren despolarizaciones continuadas. No obstante, se han observado despolarizaciones a largo plazo en respuesta a ABA. De acuerdo con el modelo actualmente aceptado, la despolarización de la membrana a largo plazo se inicia por dos factores: (1) una despolarización transitoria de la membrana plasmática inducida por ABA, acoplada con (2) un aumento del calcio citosólico. Ambas condiciones son necesarias para abrir los canales aniónicos lentos activados por calcio (tipo S) de la membrana plasmática (Schroeder y Hagiwara 1990) (véase el capítulo 6). Se ha visto que el ABA activa canales iónicos lentos en las células guarda (Grabov y col. 1997; Pei y col. 1997).

La apertura prolongada de estos canales aniónicos lentos permite que grandes cantidades de iones Cl^- y malato^{2-} escapen de la célula, moviéndose a favor de sus gradientes electroquímicos (el interior de la célula está negativamente cargado, de modo que empuja el Cl^- y el malato^{2-} fuera de la célula ya que en el exterior las concentraciones de Cl^- y malato^{2-} son inferiores). El flujo de salida de iones Cl^- y malato^{2-} genera una fuerte despolarización de la membrana, lo que inicia la apertura de los canales de salida de K^+ inducidos por voltaje.

En apoyo de este modelo, los inhibidores que bloquean los canales aniónicos lentos, como el ácido 5-nitro-2,3-fenilpropilaminobenzoico (NPB), también bloquean el cierre estomático inducido por ABA. Los inhibidores de los canales iónicos rápidos (tipo R), como el ácido 4,4'-diisotiocianatostibenceno-2,2'-disulfónico (DIDS), no tienen efecto sobre el cierre estomático inducido por ABA (Schwartz y col. 1995).

Otro factor que puede contribuir a la despolarización de la membrana es la inhibición de la H^+-ATPasa de la membrana plasmática. El ABA inhibe el bombeo de protones estimulado por la luz del azul en protoplastos de las células guarda (Figura 23.11), de acuerdo con el modelo que sugiere que la despolarización de la membrana plasmática por ABA está causada parcialmente por un descenso de la actividad de la H^+-ATPAsa de la membrana plasmática. No obstante, el ABA no inhibe directamente el bombeo de protones.

Al menos en *Vicia faba* (haba), la H^+-ATPasa de las hojas está fuertemente inhibida por calcio. Una concentración de calcio de 0,3 μM bloquea el 50 % de la actividad de la H^+-ATPasa y si la concentración de calcio es de 1 μM, el enzima se bloquea completamente (Kinoshita y col. 1995). Parece que hay dos factores que contribuyen a la inhibición por ABA del bombeo de protones de la membrana plasmática: un aumento en la concentración citosólica de Ca^{2+} y la alcalinización del citosol.

Además del cierre estomático, el ABA impide la apertura estomática inducida por luz. En este caso, el ABA actúa por inhibición de la entrada de K^+ a través de los ca-

De acuerdo con este modelo, se ha demostrado que el ABA estimula el metabolismo del fosfoinositol en las células guarda de *Vicia faba* (haba). Para detectar el efecto del ABA sobre la liberación del IP_3, fue necesario incluir al Li^+ en el medio de incubación como inhibidor de la inositolfosfatasa, que rápidamente elimina los grupos fosfato del IP_3. En estas condiciones, se midió un aumento del nivel de IP_3 inducido por ABA de un 90 % después de 10 segundos de tratamiento hormonal (Lee y col. 1996). Estudios recientes en *Arabidopsis* usando DNA antisentido para bloquear la expresión de una fosfolipasa C inducida por ABA han demostrado que se necesita este enzima para inducir los efectos del ABA en la germinación, el crecimiento y la expresión génica (Sanchez y Chua 2001).

Las proteínas G heterotriméricas pueden mediar los efectos del ABA en los movimientos estomáticos. Por ejemplo, en la mayoría de los estudios con *Vicia faba* se ha demostrado que los activadores de la proteína G, como GTPγS, pueden inhibir la actividad de los canales de entrada de K^+. De acuerdo con los resultados obtenidos con inhibidores, el ABA es incapaz de inhibir los canales de K^+ de entrada en la célula o la apertura estomática inducida por luz en un mutante de *Arabidopsis* con una subunidad Gα defectuosa (Wang y col. 2001). No obstante, el ABA todavía promueve el cierre estomático en este mutante, lo que indica que la inhibición de la apertura y la promoción del cierre estomático tienen lugar por dos rutas diferentes que terminan en el mismo punto, el cierre de los estomas.

Se han identificado otros posibles segundos mensajeros que mediarían en la respuesta del ABA, como el ácido fosfatídico y el *mio*-inositolhexafosfato (IP_6), pero la relación de estos compuestos con la señalización del IP_3 y del Ca^{2+} no se conoce todavía.

Todos estos experimentos indican que el cierre estomático en las células guarda responde a múltiples señales, posiblemente implicando a múltiples receptores y solapando rutas de transducción de señal.

Las proteína quinasas y proteína fosfatasas participan en la acción del ABA

Casi todos los sistemas de señalización implican reacciones de fosforilación y desfosforilación de proteínas en algún punto de la ruta. Así, podemos esperar que la transducción de señal en las células guarda, con sus múltiples entradas sensoriales, implique a proteína quinasas y proteína fosfatasas. Se puede aumentar artificialmente la concentración de ATP en el interior de las células guarda, lo que permite al citoplasma equilibrarse con la disolución del interior de la pipeta (véase el capítulo 6) y activar notablemente los canales aniónicos lentos.

Esta activación de los canales aniónicos lentos por ATP desaparece por la adición de inhibidores de proteína quinasas en la solución de la pipeta introducida en la célula (Schmidt y col. 1995). Los inhibidores de la proteína quinasa también bloquean el cierre estomático inducido por ABA. Por el contrario, una reducción de la concentración del ATP inactiva los canales aniónicos lentos. Experimentos adicionales confirman que esta inactivación es debida a la presencia de proteína fosfatasas, que eliminan los grupos fosfatos que están covalentemente unidos a las proteínas. En vista de estos resultados, parece que la fosforilación y desfosforilación de proteínas tiene un papel importante en la ruta de transducción de señal de las células guarda.

Recientemente han aparecido evidencias directas de una proteína quinasa activada por ABA (AAPK) en las células guarda de *Vicia faba* (Li y Assmann 1996; Mori y Muto 1997). La actividad AAPK parece ser necesaria para la activación de las corrientes de aniones tipo S y el cierre estomático. Este enzima es una proteína quinasa autofosforilante que bien forma parte de la ruta de transducción de señal del ABA independiente del Ca^{2+} o bien actúa después de los acontecimientos de señalización inducidos por calcio. (Se analizará brevemente la presencia de las dos rutas para la acción del ABA, la dependiente y la independiente de Ca^{2+}.) Además, se ha implicado a dos proteína quinasas dependientes de Ca^{2+}, así como MAP quinasas, en la regulación de la apertura estomática por ABA.

El análisis de los mutantes insensibles al ABA está ayudando a la identificación de los genes que codifican los componentes de la ruta de transducción de señal. Las mutaciones *abi1-1* y *abi2-1* dan lugar a insensibilidad al ABA tanto en semillas como en plantas adultas. Estos mutantes *abi* muestran fenotipos que corresponden a defectos en la señalización del ABA, incluida la reducción de la dormición de la semilla, una tendencia al marchitamiento (debida a una inadecuada regulación de la apertura estomática) y una disminución de la expresión de varios genes inducibles por ABA.

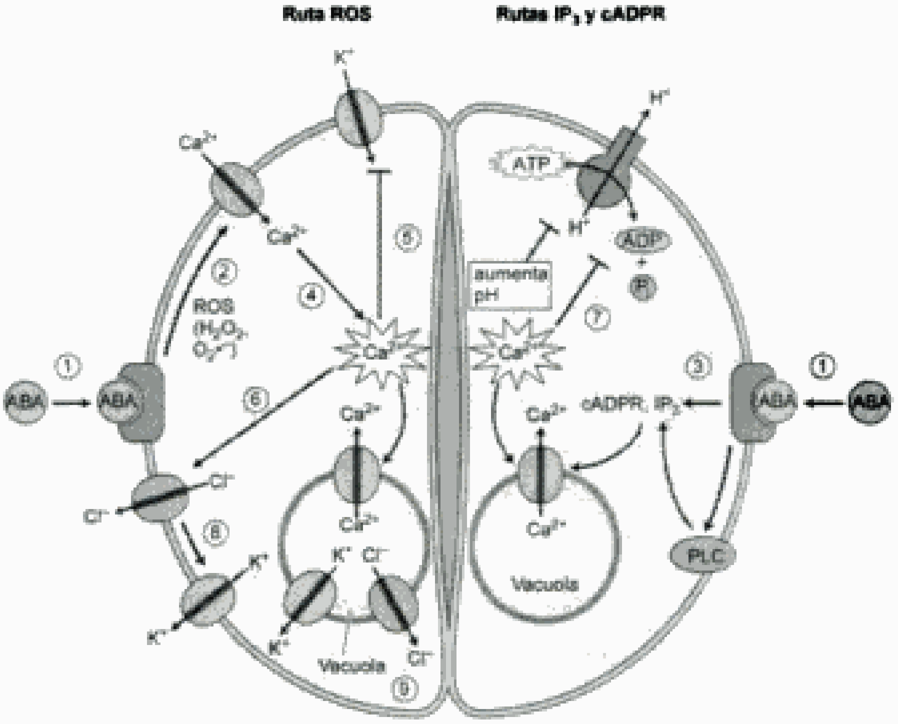
Los defectos en la respuesta estomática incluyen la insensibilidad al ABA en los canales aniónicos tipo S (tanto en los canales de entrada de K^+ como en los de salida de la célula) y la reorganización de actina. Aunque no responden al ABA, los estomas mutantes se cierran cuando se exponen a concentraciones externas de Ca^{2+}, lo que sugiere que son defectuosos en su capacidad para iniciar la señalización del Ca^{2+}. En consonancia con este hallazgo, en estos mutantes el ABA no induce oscilaciones de Ca^{2+} (Allen y col. 1999a).

Las proteína fosfatasas ABI son reguladores negativos de la respuesta al ABA

Se han clonado los genes *ABI1* y *ABI2* de *Arabidopsis* y se ha determinado que codifican dos serina/treonina proteína fosfatasas. Este descubrimiento sugiere que ABI1 y ABI2 regulan la actividad de proteínas diana por desfosforilación de residuos de serina o treonina, pero no se ha identificado de forma definitiva ninguno de sus sustratos.

Como las mutaciones *abi1-1* y *abi2-1* son responsables de un descenso en la respuesta al ABA, se supuso inicialmente que los genes de tipo silvestre *promovían* la respuesta al ABA. Sin embargo, las mutaciones originales tenían que ser dominantes más que recesivas y los estudios recientes han demostrado que actúan como «dominantes negativos», es decir, una copia defectuosa del gen es suficiente como para interrumpir la respuesta al ABA por el bloqueo de la actividad de los productos del gen funcional que queda en el alelo de tipo silvestre.

En consecuencia, se obtuvieron mutantes recesivos de *ABI1* que mostraban una pérdida simple de la actividad *ABI1*. Estos mutantes recesivos de *ABI1* actualmente tienen una sensibilidad aumentada al ABA (Gosti y col. 1999). Más aún, la sobreproducción de productos del gen de tipo silvestre o de sus homólogos (proteínas íntimamente re-



1. El ABA se une a sus receptores.

2. La unión del ABA induce la formación de especies reactivas del oxígeno, que activan los canales de Ca^{2+} de la membrana plasmática.

3. El ABA aumenta los niveles de ADP-ribosa cíclica y de IP_3, que activa canales de calcio adicionales sobre el tonoplasto.

4. La entrada de calcio inicia variaciones en el calcio intracelular y promueve la posterior liberación de calcio de las vacuolas.

5. El aumento del calcio intracelular bloquea los canales de $K^+_{entrada}$.

6. El aumento del calcio intracelular promueve la apertura de los canales de Cl^-_{salida} (anión) sobre la membrana plasmática, provocando la despolarización de la membrana.

7. El bombeo de protones de la membrana plasmática está inhibido por el aumento del calcio citosólico inducido por ABA y por el aumento del pH intracelular, provocando la despolarización de la membrana.

8. La despolarización de la membrana activa los canales de K^+_{salida}.

9. Para que el K^+ y los aniones puedan ser liberados a través de la membrana plasmática primero han de ser liberados de las vacuolas al citosol.

Figura 23.12 Modelo simplificado de la señalización del ABA en las células guarda. El efecto neto es la pérdida de potasio y su anión (Cl^- o malato^{2-}) de la célula. (R = receptor; ROS = especie reactiva del oxígeno; cADPR = ADP-ribosa cíclica; proteína G = proteína de unión a GTP; PLC = fosfolipasa C.)

detoxifican especies activas de oxígeno y proteínas reguladoras como factores de transcripción y proteína quinasas.

En algunos casos se ha demostrado directamente la estimulación de la transcripción por ABA. La activación génica por ABA está mediada por factores de transcripción. Se han identificado cuatro clases principales de secuencias que confieren inducibilidad por ABA y se han caracterizado proteínas de unión a estas secuencias (véase el **tema web 23.10**). En condiciones de estrés, la inducción de la expresión génica puede ser dependiente o independiente de ABA y se han identificado factores de transcripción adicionales que median específicamente las respuesta al frío, a la sequía o a la salinidad (véase el capítulo 25).

Se han identificado algunos elementos de DNA implicados en la represión transcripcional por ABA. Los mejor caracterizados son los elementos de respuesta a giberelinas (GAREs) que median la expresión del gen de la α-amilasa inducible por giberelina y reprimible por ABA (véase el capítulo 20).

Mediante métodos genéticos se han identificado cuatro factores de transcripción implicados en la activación génica de ABA; las mutaciones en los genes que codifican estas proteínas reducen la respuesta de las semillas al ABA. Los genes *VP1* (*VIVIPAROUS-1*) de maíz y *ABI3* (*INSENSITIVE ABA-3*) de *Arabidopsis* codifican proteínas muy similares y los genes *ABI4* y *ABI5* codifican miembros de otras dos familias de factores de transcripción. *VP1/ABI3* y *ABI4* son miembros de familias génicas que se encuentran sólo en plantas. Por el contrario, *ABI5* es un miembro de la familia de la cremallera de leucina (bZIP), cuyos miembros se encuentran en todos los eucariotas (Finkelstein y Lynch 2000).

Por métodos no genéticos se han identificado otros miembros adicionales de la subfamilia *ABI5* que están también muy relacionados con la expresión génica inducida por ABA, por el embrión, en respuesta a la sequía o al estrés salino. La caracterización de los mutantes *vp1, abi4* y *abi5* ha demostrado que cada uno de estos genes activa o reprime la transcripción, en función del gen diana. Como el promotor de un gen determinado contiene sitios de unión para diversos reguladores, es probable que los factores de transcripción actúen en complejos que constan de diferentes combinaciones de reguladores, cuya composición vendrá determinada por la combinación de los reguladores y los sitios de unión disponibles.

Hasta la fecha, se ha demostrado que la proteína *ABI3/VP1* interactúa físicamente con una gran variedad de proteínas, incluidas ABI5 y su homólogo en arroz (TRAB1). ABI5 también forma homodímeros y heterodímeros con otros miembros de la familia bZIP. Hay una evidencia adicional de que las interacciones indirectas pueden ser mediadas por proteínas 14-3-3, una clase de proteínas ácidas que dimerizan y facilitan las interacciones proteína-proteína en una gran variedad de funciones de señalización, transporte y enzimáticas (véase el **tema web 23.11**). Estos estudios demuestran la capacidad de unión específica entre varios factores de transcripción predichos pasensibilidad al etileno) (Ghassemian y col. 2001) (véase el capítulo 22). Además de mostrar defectos en las respuestas al ABA y al etileno, las mutaciones de este gen daban lugar a defectos en las respuestas a auxinas, a ácido jasmónico y a estrés. Este gen codifica una proteína de unión a membrana que parece representar un punto de «cruce», es decir, un intermediario común de señalización que media las respuestas a diferentes señales.

***El catabolismo del IP$_3$*.** Otras investigaciones han permitido identificar mutantes de la señalización de ABA basados en una expresión incorrecta de genes marcadores controlados por promotores que responden al ABA. Aunque los defectos en algunos de estos mutantes están limitados a la expresión génica, otros afectan a las respuestas de crecimiento vegetal. Uno de estos mutantes, llamado *fiery* (*fry*) por reflejar la intensidad de la emisión luminosa por un gen marcador que combina la región codificante de la luciferasa con el promotor inducible por ABA y por estrés, también es hipersensible al ABA y a la inhibición de la germinación y el crecimiento por estrés. El gen *FIERY* codifica un enzima necesario para el catabolismo de IP$_3$ (Xiong y col. 2001). El fenotipo mutante demuestra que la capacidad de atenuar, así como de inducir, la señalización del estrés es importante para el éxito de la inducción de la tolerancia al estrés.

La señalización del ABA implica la acción coordinada de reguladores positivos y negativos que afectan a procesos tan diversos como la transcripción, el procesamiento del RNA, la fosforilación de proteínas o la farnesilación y el metabolismo de los segundos mensajeros, del mismo modo que los mecanismos de señalización documentados para otras hormonas vegetales. Poco a poco se están identificando los componentes de la ruta de la señalización y, con frecuencia, se encuentra que funcionan en respuesta a señales múltiples. El reto siguiente es determinar cómo pueden conducir a respuestas específicas al ABA.

RESUMEN

El ácido abscísico tiene una función principal en la dormición de semillas y yemas, así como en respuesta al estrés hídrico. El ABA es un compuesto terpenoide de 15 carbonos, derivado de la porción terminal de los carotenoides. El ABA en los tejidos se puede cuantificar por bioensayos basados en el crecimiento, la germinación o el cierre estomático. La cromatografía de gases, el HPLC y los inmunoensayos son las técnicas más fiables y precisas disponibles para cuantificar los niveles de ABA.

El ABA se produce por la ruptura de un precursor carotenoide de 40 carbonos que se sintetiza a partir del isopentenil difosfato a través de la ruta terpenoide. El ABA se inactiva por degradación oxidativa y por conjugación.

En general, la respuesta al ABA parece estar regulada por más de una ruta de transducción de señal, incluso dentro de un mismo tipo de célula. Esta redundancia es coherente con la capacidad de las células vegetales de responder a múltiples estímulos sensoriales. Hay una evidencia genética de un cruce entre la señalización del ABA y la señalización de todas las otras clases principales de fitohormonas, así como con los azúcares.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

23.1 La estructura del ácido lunulárico de las hepáticas
Aunque inactivo en las plantas superiores, el ácido lunulárico parece tener una función similar al ABA en las hepáticas.

23.2 Las necesidades estructurales para la actividad biológica del ABA
Para ser activo como hormona, el ABA necesita ciertos grupos funcionales.

23.3 El bioensayo del ABA
Se han usado varios tejidos que responden al ABA para detectar y cuantificar ABA.

23.4 Las proteínas necesarias para la tolerancia a la desecación
El ABA induce la síntesis de proteínas que protegen a las células del daño por desecación.

23.5 Tipos de semillas latentes y las funciones de los factores ambientales
Este análisis se extiende a los varios tipos de semillas latentes y describe cómo los factores ambientales afectan a la dormición de las semillas.

23.6 La longevidad de las semillas
En ciertas condiciones, las semillas pueden permanecer latentes cientos de años.

23.7 Mapeo genético de la dormición: el *locus* marcador cuantitativo (QLT), una cuantificación de la dormición vegetativa combinada con la aproximación de un gen candidato
Se describe un método genético para la determinación del número y localización cromosómica de los genes que afectan a un carácter cuantitativo influido por muchos genes no relacionados.

23.8 La senescencia inducida por ABA y etileno

Se han creado mutantes insensibles a la hormona para distinguir los efectos del etileno de los que produce el ABA sobre la senescencia.

23.9 El amarillo camaleón: una herramienta no invasiva para cuantificar el calcio intracelular

Se describen las características de la proteína de color amarillo camaleón que permite actuar como marcador de la concentración de calcio.

23.10 Los elementos promotores que regulan la expresión génica inducida por ABA

Se muestra una tabla con los diferentes elementos de respuesta a ABA.

23.11El sistema doble híbrido

El factor de transcripción GAL4 se puede usar para detectar las interacciones proteína-proteína en levadura.

Ensayos web

23.1 Heterofilia en plantas acuáticas

El ácido abscísico induce una morfología de tipo aéreo en las hojas de plantas acuáticas.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Allan A. C., Fricker M. D., Ward J. L., Beale M. H. y Trewavas A. J. (1994) Two transduction pathways mediate rapid effects of abscisic acid in *Commelina* guard cells. *Plant Cell* 6: 1319–1328.

Allen G. J., Kuchitsu K., Chu S. P., Murata Y. y Schroeder J. I. (1999a) *Arabidopsis* abi1-1 and abi2-1 phosphatase mutations reduce abscisic acid-induced cytoplasmic calcium rises in guard cells. *Plant Cell* 11: 1785–1798.

Allen G. J., Kwak J. M., Chu S. P., Llopis J., Tsien R. Y., Harper J. F. y Schroeder J. I. (1999b) Cameleon calcium indicator reports cytoplasmic calcium dynamics in *Arabidopsis* guard cells. *Plant J.* 19: 735–747.

Anderson B. E., Ward J. M. y Schroeder J. I. (1994) Evidence for an extracellular reception site for abscisic acid in *Commelina* guard cells. *Plant Physiol.* 104: 1177–1183.

Beardsell M. F. y Cohen D. (1975) Relationships between leaf water status, abscisic acid levels, and stomatal resistance in maize and sorghum. *Plant Physiol.* 56: 207–212.

Bewley J. D. y Black M. (1994) *Seeds: Physiology of Development and Germination*, 2ª ed. Plenum, New York.

Cutler S., Ghassemian M., Bonetta D., Cooney S. y McCourt P. (1996) A protein farnesyl transferase involved in abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. *Science* 273: 1239–1241.

Davies P. J., ed. (1995) *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, 2ª ed. Kluwer Dordrecht, Netherlands.

Davies W. J. y Zhang J. (1991) Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 55–76.

Finkelstein R. R. y Lynch T. J. (2000) The *Arabidopsis* abscisic acid response gene ABI5 encodes a basic leucine zipper transcription factor. *Plant Cell* 12: 599–609.

Finkelstein R. R., Wang M. L., Lynch T. J., Rao S. y Goodman H. M. (1998) The *Arabidopsis* abscisic acid response locus ABI4 encodes an APETALA2 domain protein. *Plant Cell* 10: 1043–1054.

Ghassemian M., Nambara E., Cutler S., Kawaide H., Kamiya Y. y McCourt P. (2000) Regulation of abscisic acid signaling by the ethylene response pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 12: 1117–1126.

Gilroy S. y Jones R. L. (1994) Perception of gibberellin and abscisic acid at the external face of the plasma membrane of barley (*Hordeum vulgare* L.) aleurone protoplasts. *Plant Physiol.* 104: 1185–1192.

Gilroy S., Read N. D. y Trewavas A. J. (1990) Elevation of cytoplasmic calcium by caged calcium or caged inositol trisphosphate initiates stomatal closure. *Nature* 343: 769–771.

Gomez-Cadenas A., Zentella R., Walker-Simmons M. K. y Ho T.-H. D. (2001) Gibberellin/abscisic acid antagonism in barley aleurone cells: Site of action of the protein kinase PKABA1 in relation to gibberellin signaling molecules. *Plant Cell* 13: 667–679.

Gosti F., Beaudoin N., Serizet C., Webb A. A. R., Vartanian N. y Giraudat J. (1999) ABI1 protein phosphatase 2C is a negative regulator of abscisic acid signaling. *Plant Cell* 11: 1897–1909.

Grabov A., Leung J., Giraudat J. y Blatt M. (1997) Alteration of anion channel kinetics in wild-type and *abi1-1* transgenic *Nicotiana benthamiana* guard cells by abscisic acid. *Plant J.* 12: 203–213.

Hoecker U., Vasil I. K. y McCarty D. R. (1995) Integrated control of seed maturation and germination programs by activator and repressor functions of Viviparous-1 of maize. *Genes Dev.* 9: 2459–2469.

Hugouvieux V., Kwak J. M. y Schroeder J. I. (In press) A mRNA cap binding protein, ABH1, modulates early abscisic acid signal transduction in *Arabidopsis*. *Cell*.

Jeannette E., Rona J.-P., Bardat F., Cornel D., Sotta B. y Miginiac E. (1999) Induction of *RAB18* gene expression and activation of K^+ outward rectifying channels depend on an extracellular perception of ABA in *Arabidopsis thaliana* suspension cells. *Plant J.* 18: 13–22.

Kinoshita T., Nishimura M. y Shimazaki K.-I. (1995) Cytosolic concentration of Ca^{2+} regulates the plasma membrane H^+-ATPase in guard cells of fava bean. *Plant Cell* 7: 1333–1342.

Koornneef M., Jorna M. L., Brinkhorst-van der Swan D. L. C. y Karssen C. M. (1982) The isolation of abscisic acid (ABA) deficient mutants by selection of induced revertants in non-germinating gibberellin sensitive lines of *Arabidopsis thaliana* L. *Heynh. Theor. Appl. Genet.* 61: 385–393.

Lee Y., Choi Y. B., Suh S., Lee J., Assmann S. M., Joe C. O., Kelleher J. F. y Crain R. C. (1996) Abscisic acid-induced phosphoinositide turnover in guard cell protoplasts of *Vicia faba*. *Plant Physiol.* 110: 987–996.

Li J. y Assmann S. M. (1996) An abscisic acid-activated and calcium-independent protein kinase from guard cells of fava bean. *Plant Cell* 8: 2359–2368.

Mansfield T. A. y McAinsh M. R. (1995) Hormones as regulators of water balance. En *Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, 2ª ed., P. J. Davies, ed., Kluwer, Dordrecht, Netherlands, págs. 598–616.

Milborrow B. V. (2001) The pathway of biosynthesis of abscisic acid in vascular plants: A review of the present state of knowledge of ABA biosynthesis. *J. Exp. Bot.* 52: 1145–1164.

Mori I. C. y Muto S. (1997) Abscisic acid activates a 48-kilodalton protein kinase in guard cell protoplasts. *Plant Physiol.* 113: 833–839.

Nambara E., Hayama R., Tsuchiya Y., Nishimura M., Kawaide H., Kamiya Y. y Naito S. (2000) The role of *abi3* and *fus3* loci in *Arabidopsis thaliana* on phase transition from late embryo development to germination. *Dev. Biol.* 220: 412–423.

Neill S. J., Desikan R., Clarke A. y Hancock J. T. (2002) Nitric oxide is a novel component of abscisic acid signaling in stomatal guard cells. *Plant Physiol.* 128: 13–16.

Pei Z.-M., Kuchitsu K., Ward J. M., Schwarz M. y Schroeder J. I. (1997) Differential abscisic acid regulation of guard cell slow anion channels in *Arabidopsis* wild-type and abi1 and abi2 mutants. *Plant Cell* 9: 409–423.

Pei Z. M., Murata Y., Benning G., Thomine S., Klusener B., Allen G. J., Grill E. y Schroeder J. I. (2000) Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature* 406: 731–734.

Raz V., Bergervoet J. H. W. y Koornneef M. (2001) Sequential steps for developmental arrest in *Arabidopsis* seeds. *Development* 128: 243–252.

Rock C. D. (2000) Pathways to abscisic acid-regulated gene expression. *New Phytol.* 148: 357–396.

Capítulo 24

EL CONTROL DE LA FLORACIÓN

La mayoría de la gente asocia la llegada de la primavera a la proliferación de flores. Incluso, muchos viajeros planifican cuidadosamente la época de sus viajes para hacerlos coincidir con épocas específicas de floración: cítricos en flor a lo largo del camino de las flores en el sur de California o tulipanes en Holanda. En Washington D. C. y en Japón, los cerezos en flor son recibidos con ceremonias especiales. A medida que la primavera avanza hacia el verano, el verano al otoño y de éste al invierno, las plantas silvestres van floreciendo en momentos determinados.

A pesar de que es bien conocida la estrecha correlación que hay entre la floración y las estaciones, este fenómeno plantea ciertas cuestiones fundamentales que serán estudiadas en este capítulo:

- ¿Cómo pueden las plantas seguir las estaciones del año y el momento del día?
- ¿Qué señales medioambientales controlan la floración y cómo perciben las plantas estas señales?
- ¿Cómo son transducidas las señales medioambientales para llevar a cabo los cambios del desarrollo asociados con la floración?

En el capítulo 16 analizamos la función de los meristemos apicales radicales y del brote o caulinares en el crecimiento y desarrollo vegetativo. La transición a la floración implica cambios esenciales en el patrón de morfogénesis y diferenciación celular en el meristemo apical caulinar. En última instancia, este proceso conduce al desarrollo de los órganos florales (sépalos, pétalos, estambres y carpelos) (véase la figura 1.2A en **tema web 1.2**).

Unas células especializadas en las anteras sufren meiosis para dar lugar a cuatro microsporas haploides que se convertirán en los granos de polen. Del mismo modo, una célula en el primordio seminal se divide meióticamente para producir cuatro megásporas haploides, una de las cuales sobrevive y sufre tres divisiones mitóticas para formar las células del saco embrionario (véase la figura 1.2B en **tema web 1.2**). El saco embrionario representa el gametofito femenino maduro. El grano de polen, con su tubo germinativo, es el gametofito masculino maduro. Las dos estructuras gametofíticas producen los gametos (la ovocélula y las células espermáticas) que se fusionan para formar el zigoto diploide, la primera etapa de la nueva generación esporofítica.

Es evidente que las flores representan un complejo de estructuras altamente especializadas que difieren sustancialmente de las que posee la forma vegetativa en tipos de células y forma. La transición a la floración implica cambios radicales en el destino de las células en el meristemo apical caulinar. En la primera parte de este capítulo analizaremos estos cambios, que se denominan *desarrollo floral*. Recientemente se han identificado los genes que tienen una función esencial en la formación de los órganos florales. Estos estudios han aportado nueva luz sobre el control genético del desarrollo reproductivo de la planta.

Los procesos que se producen en el ápice caulinar y que inducen al meristemo apical a producir *flores* se conocen como **evocación floral**. En la segunda parte de este capítulo analizaremos los acontecimientos que conducen a la evocación floral. Las señales del desarrollo que dan lugar a la evocación floral incluyen factores endógenos como los *ritmos circadianos, el cambio de fase* y *hormonas;* y factores externos como la duración del día (*fotoperíodo*) y la temperatura (*vernalización*). En el caso del fotoperíodo, las señales que se transmiten desde las hojas, conocidas globalmente como **estímulo floral**, se transportan al meristemo apical del brote. Las interacciones de estos factores endógenos y externos permiten a la planta sincronizar su desarrollo reproductivo con el entorno.

MERISTEMOS FLORALES Y DESARROLLO DE LOS ÓRGANOS FLORALES

Normalmente, los meristemos florales se pueden distinguir de los meristemos vegetativos por su mayor tamaño, incluso en las primeras etapas del desarrollo reproductivo. La transición desde el desarrollo vegetativo al reproductivo está marcada por un aumento en la frecuencia de las divisiones celulares en la zona central del meristemo apical del brote. En el meristemo vegetativo, las células de la zona central completan sus ciclos de división lentamente. Cuando comienza el desarrollo reproductivo, el aumento en el tamaño del meristemo se debe en gran parte al aumento en la tasa de división de estas células centrales. Recientemente, mediante estudios genéticos y moleculares, se ha identificado una red de genes que controlan la morfogénesis floral en *Arabidopsis*, boca de dragón (*Antirrhinum*) y otras especies.

En esta sección nos centraremos en el desarrollo floral de *Arabidopsis*, una planta que ha sido ampliamente estudiada (Figura 24.1). En primer lugar desarrollaremos

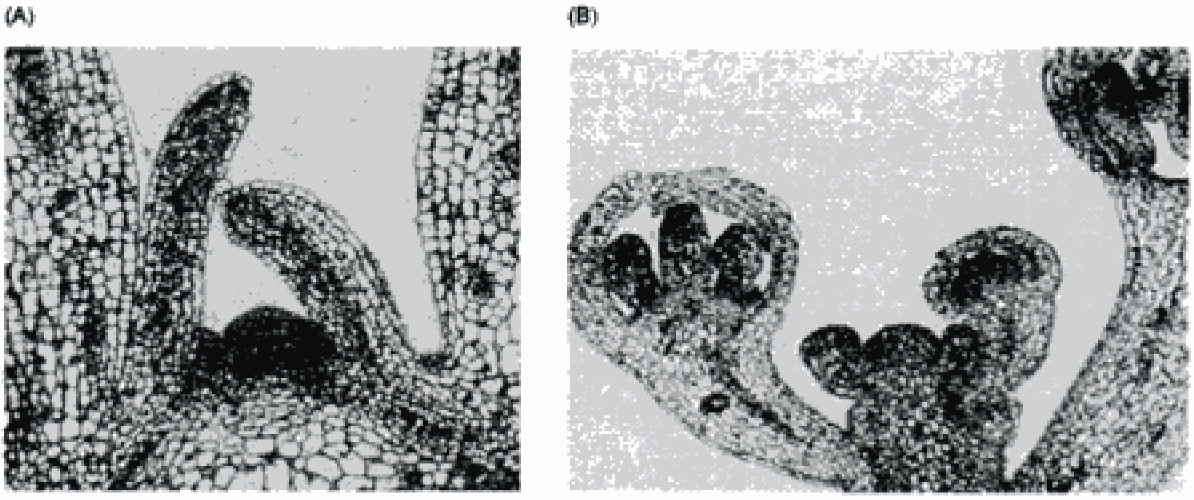


Figura 24.2 Sección longitudinal de una región apical del brote vegetativo (A) y reproductivo (B) en *Arabidopsis* (Fotos cortesía de V. Grbic' y M. Nelson, ensambladas y marcadas por E. Himelblau.)

A medida que las plantas inician su desarrollo reproductivo, el meristemo vegetativo se transforma en un **meristemo primario de inflorescencia** indeterminado que produce los meristemos florales en su periferia (Figura 24.2). Las yemas laterales de las hojas caulinares (hojas de inflorescencia) se desarrollan en **meristemos secundarios de inflorescencia** y su actividad repite el patrón de desarrollo del meristemo primario de inflorescencia, como se muestra en la figura 24.1A.

Los cuatro tipos de órganos florales se inician como verticilos separados

Los meristemos florales forman cuatro tipos de órganos florales: sépalos, pétalos, estambres y carpelos (Coen y Carpenter 1993). Este conjunto de órganos se inicia en anillos concéntricos, llamados **verticilos**, alrededor de la periferia del meristemo (Figura 24.3). El inicio de los órganos más internos, los carpelos, consume todas las células meristemáticas de la cúpula apical y sólo se encuentran primordios florales cuando las yemas florales se desarrollan. En las flores de las plantas de *Arabidopsis* tipo silvestre, los verticilos se ordenan del siguiente modo:

- El primer verticilo (el más externo) consta de cuatro sépalos, que son verdes en la madurez.
- El segundo verticilo está formado por cuatro pétalos, que serán blancos en la madurez.
- El tercer verticilo consta de seis estambres, dos de los cuales son más cortos que los otros cuatro.

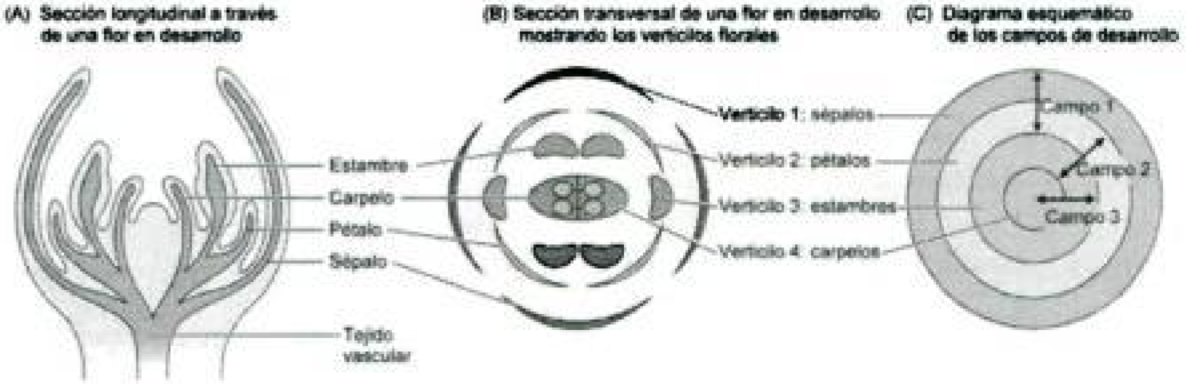

(A) Sección longitudinal a través de una flor en desarrollo
Estambre
Carpelo
Pétalo
Sépalo
Tejido vascular
(B) Sección transversal de una flor en desarrollo mostrando los verticilos florales
Verticilo 1: sépalos
Verticilo 2: pétalos
Verticilo 3: estambres
Verticilo 4: carpelos
(C) Diagrama esquemático de los campos de desarrollo
Campo 1
Campo 2
Campo 3

Figura 24.3 Los órganos florales se inician secuencialmente en el meristemo floral de *Arabidopsis*. (A y B) Los órganos florales producidos en verticilos sucesivos (anillos concéntricos), que empiezan con los sépalos y progresan hacia dentro. (C) De acuerdo con el modelo combinatorio, las funciones de cada verticilo están determinadas por el solapamiento de los campos de desarrollo. Estos campos corresponden a los patrones de expresión de genes de identidad de órgano específicos de flores. (Según Bewley y col. 2000.)

- El cuarto verticilo es un único órgano complejo, el gineceo o pistilo, que está formado por un ovario con dos carpelos fusionados, cada uno de los cuales contiene numerosos primordios seminales y un pequeño estilo cubierto por un estigma (Figura 24.4).

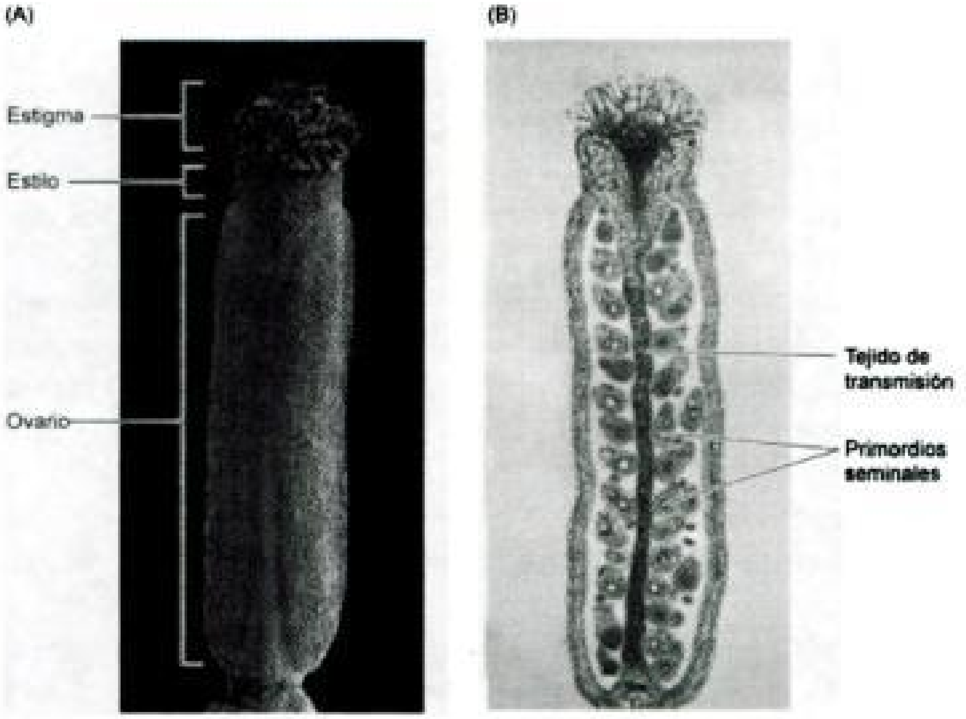

(A)
Estigma
Estilo
Ovario
(B)
Tejido de transmisión
Primordios seminales

Figura 24.4 Los pistilos de *Arabidopsis* constan de dos carpelos fusionados, cada uno de los cuales contiene muchos primordios seminales. (A) Micrografía electrónica de barrido de un pistilo, mostrando el estigma, un estilo corto y el ovario. (B) Sección longitudinal de un pistilo, mostrando los numerosos primordios seminales. (Según Gasser y Robinson-Beers, 1993, cortesía de C.S. Passer, ©Society of Plant Biologist, reimpresa con permiso.)

El desarrollo floral está regulado por tres tipos de genes

Las mutaciones han permitido identificar tres clases de genes que regulan el desarrollo floral: genes de identidad del órgano floral, genes catastrales y genes de identidad del meristemo.

1. **Los genes de identidad del órgano floral** controlan directamente la identidad floral. Las proteínas codificadas por estos genes son factores de transcripción que probablemente controlan la expresión de aquellos genes cuyos productos están implicados en la formación y/o función de los órganos *florales*.
2. **Los genes catastrales** actúan como reguladores espaciales de los genes de identidad del órgano floral estableciendo límites a su expresión. (La palabra inglesa *cadastre* indica el mapa o descripción que muestra los límites de propiedades con finalidad fiscal.)
3. **Los genes de identidad del meristemo** son necesarios para la inducción inicial de los genes de identidad de órgano. Estos genes son reguladores positivos de la identidad de los órganos florales.

Los genes de identidad del meristemo regulan la función del meristemo

Los genes de identidad del meristemo deben estar activos para que los primordios formados en la periferia del meristemo apical lleguen a ser meristemos florales. (Recuérdese que un meristemo apical que está formando meristemos florales en su periferia se conoce como un meristemo de inflorescencia). Por ejemplo, mutantes de *Antirrhinum* (boca de dragón) con el gen *FLORICAULA* de identidad del meristemo defectuoso, desarrollan una inflorescencia que no produce flores. El gen mutante *floricaula* provoca la formación de meristemos de inflorescencia adicionales en las axilas de las brácteas, en lugar de meristemos florales. El gen *floricaula* silvestre (*FLO*) controla la etapa determinante en la que se establece la identidad del meristemo floral.

En *Arabidopsis*, *AGAMOUS-LIKE 20*[1] *(AGL20)*, *APETALA1 (AP1)* y LEAFY *(LFY)* son genes críticos en la ruta génica que debe ser activada para establecer la identidad del meristemo floral. *LFY* es la versión en *Arabidopsis* del gen *FLO* de *Antirrhinum*. El gen *AGL20* tiene un papel central en la evocación floral al integrar las señales de varias rutas diferentes que implican factores ambientales e internos (Borner y col. 2000). *AGL20* parece servir como un interruptor general del inicio del desarrollo floral.

---

[1] Conocido también como SOC1, del inglés *s*upresor *o*f *o*verexpression of *c*onstans *1*, supresor de la sobreexpresión de constans 1.

Una vez activado, *AGL20* inicia la expresión de *LFY*, y *LFY* a su vez activa la expresión de *AP1* (Simon y col. 1996). En *Arabidopsis*, *LFY* y *AP1* están implicados en un bucle de retroalimentación positiva; es decir, la expresión de *AP1* también estimula la expresión de *LFY*.

Las mutaciones homeóticas permitieron la identificación de los genes de identidad del órgano floral

Los genes que determinan la identidad del órgano floral fueron descubiertos como **mutantes homeóticos florales** (véase el capítulo 14 en la página web). Como analizamos en el capítulo 14, las mutaciones en la mosca de la fruta, *Drosophila*, permitieron la identificación de un conjunto de genes homeóticos que codifican factores de transcripción que determinan la localización en que se forman estructuras específicas. Estos genes actúan como interruptores en el desarrollo que activan el programa genético completo de una estructura determinada. La expresión de los genes homeóticos proporciona su identidad a los órganos.

Como ya vimos en este capítulo, las flores de las dicotiledóneas constan de sucesivos verticilos de órganos que se forman como resultado de la actividad de los meristemos florales: sépalos, pétalos, estambres y carpelos. Estos órganos son generados cuándo y dónde están debido a la expresión ordenada y a las interacciones de un pequeño grupo de genes homeóticos que especifican la identidad de los órganos florales.

Los genes de identidad del órgano floral fueron identificados mediante mutaciones homeóticas que alteraban la identidad de éstos, de modo que los órganos florales aparecían en un lugar equivocado. Por ejemplo, plantas de *Arabidopsis* con mutaciones en el gen *APETALA2 (AP2)* producen flores con carpelos donde deberían estar los sépalos y estambres donde normalmente están los pétalos.

Los genes homeóticos que se han clonado codifican factores de transcripción (proteínas que controlan la expresión de otros genes). La mayoría de los genes homeóticos pertenecen a una familia de secuencias conocidas como **genes MADS box**, mientras que los genes homeóticos animales contienen secuencias llamadas homeoboxes (véase el capítulo 14 en la página web).

La mayoría de los genes que determinan la identidad del órgano floral son genes MADS box, como el gen *DEFICIENS* de *Anthirrinum* y los genes *AGAMOUS, PISTILLATA1* y *APETALA3* de *Arabidopsis*. Los genes MADS box comparten una característica común, una secuencia de nucleótidos muy conservada conocida como *MADS box*, que codifica una estructura proteica conocida como *dominio MADS*. El dominio MADS permite que estos factores de transcripción se unan al DNA con una secuencia específica de nucleótidos.

No todos los genes que contienen el dominio MADS box son genes homeóticos. Por ejemplo, *AGL20* es un gen MADS box, pero funciona como un gen de identidad del meristemo.

Tres tipos de genes homeóticos controlan la identidad del órgano floral

En *Arabidopsis* hay cinco genes que especifican la identidad del órgano: *APETALA1 (AP1), APETALA2 (AP2), APETALA3 (AP3), PISTILLATA (PI)* y *AGAMOUS (AG)* (Bowman y col. 1989; Weigel y Meyerowitz 1994). Los genes de identidad del órgano floral fueron identificados inicialmente a través de mutaciones que alteraban dramáticamente la estructura y, de este modo, la identidad de los órganos florales en dos verticilos adyacentes (Figura 24.5). Por ejemplo, las plantas con la mutación *ap2* carecen de sépalos y pétalos (véase la figura 24.5B). Los mutantes *ap3* o *pi* producen sépalos en lugar de pétalos en el segundo verticilo y carpelos en lugar de estambres en el tercer verticilo (véase la figura 24.5C). Y las plantas homocigotas para la mutación *ag* carecen de estambres y carpelos (véase la figura 24.5D).

Como las mutaciones en estos genes cambian la identidad de los órganos florales sin afectar a la iniciación de las flores, son genes homeóticos. Estos genes ho-

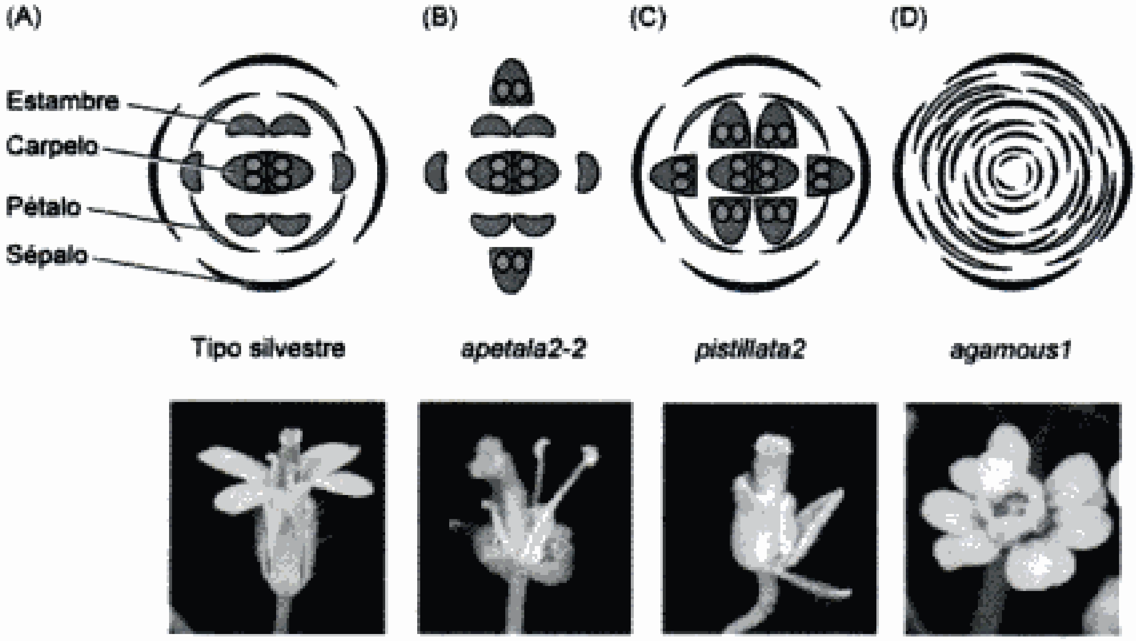


Figura 24.5 Mutaciones en los genes de identidad del órgano floral alteran dramáticamente la estructura de la flor. (A) Tipo silvestre; (B) los mutantes *apetala2-2* carecen de sépalos y pétalos; (C) los mutantes *pistillata2* carecen de pétalos y estambres; (D) los mutantes *agamous1* carecen tanto de estambres como de carpelos. (Según Bewley y col. 2000.)

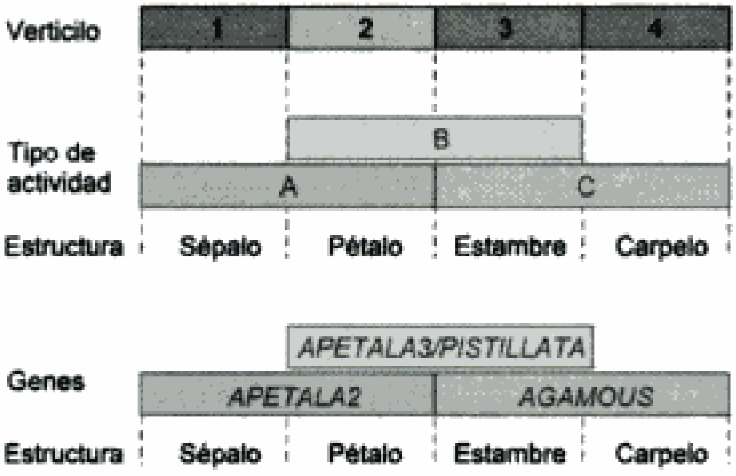


Figura 24.6 El modelo ABC para la adquisición de la identidad de los órganos florales está basado en las interacciones de tres tipos diferentes de actividad de los genes homeóticos florales: A, B y C. En el primer verticilo, la expresión única de A (*AP2*) da lugar a la formación de los sépalos. En el segundo verticilo, la expresión de la actividad tipo A (*AP2*) y tipo B (*AP3/PI*) da lugar a la formación de pétalos. En el tercer verticilo, la expresión de la actividad B (*AP2/PI*) y C (*AG*) provoca la formación de estambres. En el cuarto verticilo, la actividad única de C (*AG*) especifica los carpelos. Además, la actividad A (*AP2*) reprime la actividad C en los verticilos 1 y 2, mientras que C reprime A en los verticilos 3 y 4.

meóticos se clasifican en tres clases (tipo A, B y C), que definen tres clases diferentes de actividad (Figura 24.6):

1. La actividad del tipo A, codificada por *AP1* y *AP2*, controla la identidad de los órganos florales en el primer y segundo verticilo. La pérdida de la actividad de tipo A da lugar a la formación de carpelos en lugar de sépalos en el primer verticilo y de estambres en lugar de pétalos en el segundo verticilo.
2. La actividad del tipo B, codificada por *AP3* y *PI*, controla la determinación de los órganos en el segundo y tercer verticilo. La pérdida de la función de la actividad de tipo B da lugar a la formación de sépalos en lugar de pétalos en el segundo verticilo y de carpelos en lugar de estambres en el tercer verticilo.
3. La actividad del tipo C, codificada por *AG*, controla los acontecimientos que se producen en el tercer y cuarto verticilo. La pérdida de la actividad de tipo C da lugar a la formación de pétalos en lugar de estambres en el tercer verticilo y a la sustitución del cuarto verticilo por una nueva flor. De este modo, el cuarto verticilo en la flor del mutante *ag* está ocupado por sépalos.

El control de la identidad de los órganos por los genes homeóticos A, B y C (el modelo ABC) se describe con detalle en la siguiente sección.

La función de los genes de identidad del órgano en el desarrollo floral se vio confirmada espectacularmente en los experimentos en los que se eliminaban dos o tres actividades utilizando mutantes de pérdida de función (Figura 24.7). Las plantas que

Los patrones de formación de los órganos en las plantas tipo silvestre, y en la mayoría de los fenotipos mutantes, se pueden explicar y predecir con este modelo (Figura 24.8). El desafío actual es comprender cómo controlan los genes catastrales los patrones de expresión de los genes de identidad de los órganos; cómo los genes de identidad de órgano, que codifican factores de transcripción, alteran los patrones de otros genes expresados durante el desarrollo del órgano y, finalmente, cómo este patrón de expresión alterado da lugar a un órgano floral específico durante el desarrollo.

LA EVOCACIÓN FLORAL: CONTROL INTERNO Y EXTERNO

Una planta puede florecer en pocas semanas tras la germinación, tal y como ocurre en plantas anuales como hierba cana (*Senecio vulgaris*). Por el contrario, algunas plantas perennes, como muchos árboles forestales, pueden crecer 20 años o más antes de empezar a producir flores. La edad de floración depende de la especies, indicando que quizás la edad o el tamaño de las plantas es un factor *interno* que controla el inicio del desarrollo reproductivo. En los casos en los que la floración se produce estrictamente en respuesta a factores de desarrollo internos y no depende de ninguna condición externa particular, se debe a una *regulación autónoma.*

A diferencia de las plantas que florecen a través de una ruta totalmente autónoma, algunas plantas muestran un requerimiento absoluto de factores ambientales apropiados para florecer. Esta condición se denomina respuesta *obligada* o *cualitativa* a un factor ambiental. En otras especies vegetales, la floración es promovida por ciertos factores ambientales, pero podría ocurrir eventualmente en ausencia de éstos. Esta se denomina respuesta *facultativa* o *cuantitativa* a un factor ambiental. La floración de este último grupo de plantas, que incluye a *Arabidopsis*, se basa en sistemas de floración medioambientales y autónomos.

El fotoperiodismo y la vernalización son los dos principales mecanismos que determinan las respuestas estacionales. El *fotoperiodismo* es una respuesta a la duración del día; la *vernalización* es la promoción de la floración (a temperaturas posteriores más altas) tras la exposición a frío. Otras señales, como la radiación luminosa total y la disponibilidad de agua son también factores externos importantes.

El desarrollo de los sistemas de control internos (autónomos) y externos (capaces de sentir el entorno) permiten a las plantas regular la floración en el momento adecuado para asegurar el éxito reproductivo. Por ejemplo, en muchas poblaciones vegetales, la floración está sincronizada. Esta sincronización favorece la fecundación cruzada y permite que las semillas sean producidas en ambientes favorables, particularmente respecto al agua y la temperatura.

EL ÁPICE CAULINAR Y LOS CAMBIOS DE FASE

Todos los organismos multicelulares pasan a través de una serie de etapas de desarrollo más o menos definidas, cada una de las cuales tiene unas características determinadas. En humanos, el nacimiento, la infancia, la adolescencia y la edad adulta representan las cuatro etapas de desarrollo, siendo la pubertad la línea divisoria entre las fases no reproductivas y reproductivas. Las plantas superiores pasan a través de etapas de desarrollo, pero mientras en los animales estos cambios tienen lugar en todo el organismo, en las plantas se producen en una única región dinámica de la planta, **el meristemo apical caulinar**.

Los meristemos apicales caulinares tienen tres fases de desarrollo

Durante el desarrollo postembrionario, el meristemo apical caulinar o del brote pasa por tres etapas de desarrollo más o menos definidas:

1. La fase juvenil.
2. La fase adulta vegetativa.
3. La fase adulta reproductiva.

La transición de una fase a otra se llama **cambio de fase**.

La principal diferencia entre las fases juvenil y la adulta vegetativa es que en esta última tiene la capacidad de formar estructuras reproductivas: flores en las angiospermas y conos en las gimnospermas. Sin embargo, la expresión de la competencia reproductiva de la fase adulta (por ejemplo, la floración) depende con frecuencia de señales ambientales y específicas del desarrollo. Así, la ausencia de floración en sí misma no es indicador de la fase juvenil.

La transición desde la juventud a la madurez con frecuencia está asociada a cambios en características vegetativas, tales como la morfología de las hojas, la filotaxis (la ordenación de las hojas alrededor del tallo), presencia de espinas, la capacidad de enraizamiento y, en plantas caducifolias, la retención de hojas (Figura 24.9; véase también el **tema web 24.1**). Estos cambios son más evidentes en especies leñosas perennes, aunque también se han encontrado en algunas especies herbáceas. A diferencia de los cambios bruscos que se producen en la transición desde la fase adulta vegetativa a la fase reproductiva, la transición desde el estado juvenil al adulto vegetativo es gradual e implica formas intermedias.

Algunas veces la transición se puede observar en una única hoja. Un ejemplo dramático de esta transición es la transformación progresiva de las hojas de *Acacia heterophylla*, una leguminosa arbórea, en filodios, fenómeno descrito ya por Goethe.

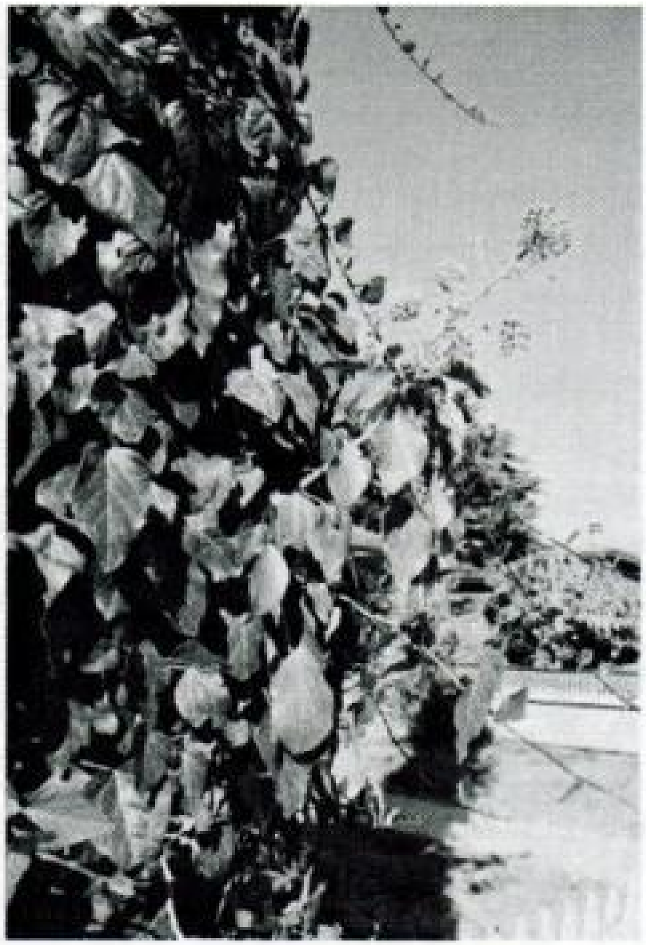


Figura 24.9 Formas juvenil y adulta de hiedra. La forma juvenil tiene hojas lobuladas palmeadas con distribución alterna, sin flores y con hábito trepador. La forma adulta (creciendo hacia la derecha) posee hojas aovadas, distribuidas en espiral, con un hábito de crecimiento vertical y con flores. (Foto cortesía de D. Vince-Prue.)

Mientras las hojas compuestas juveniles constan de raquis (tallo) y foliolos, los filodios adultos son estructuras especializadas con pecíolos planos (Figura 24.10).

Las estructuras intermedias también se forman durante la transición de las hojas acuáticas a hojas aéreas en algunas plantas acuáticas, como *Hippuris vulgaris* (corregüela hembra). Como en el caso de la *Acacia heterophylla*, estas formas tienen regiones determinadas con diferentes patrones de desarrollo. Para explicar estas formas intermedias durante la transición de la etapa juvenil a la adulta en maíz (véase el **tema web 24.2**), se ha propuesto un **modelo combinatorio** (Figura 24.11). De acuerdo con este modelo, el desarrollo del brote se puede describir como una serie de programas *solapados* e independientes (juvenil, adulto y reproductivo) que modulan la expresión de un conjunto común de procesos del desarrollo.

En la transición de las hojas de la etapa juvenil a la adulta, las formas intermedias indican que regiones diferentes de la misma hoja pueden mostrar diferentes programas de desarrollo. Así, las células en el extremo de la hoja siguen el programa juvenil, mientras las células en la base están reguladas por el programa adulto. El destino en cuanto al desarrollo de ambos grupos de células de la misma hoja resulta bastante diferente.

Los tejidos juveniles se producen primero y están localizados en la base del brote

La secuencia temporal de las tres etapas del desarrollo genera un gradiente de juvenilidad a lo largo del eje del brote. Como el crecimiento en longitud está res-

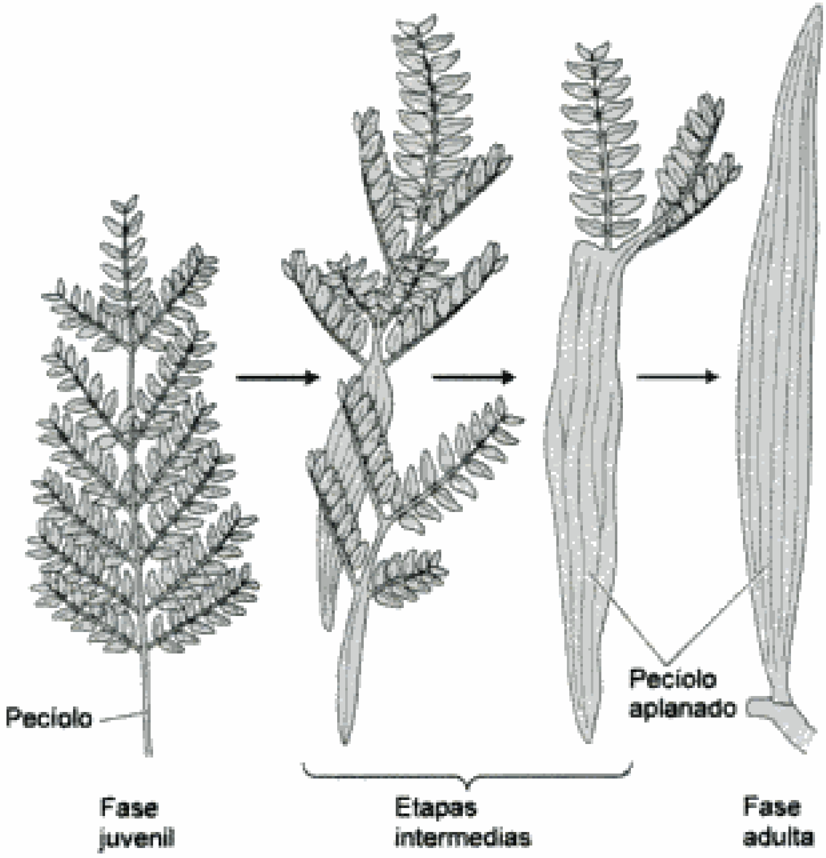


Figura 24.10 Hojas de *Acacia heterophylla*, mostrando las transiciones desde las hojas compuestas pinadas (fase juvenil) a los filodios (fase adulta). Obsérvese que la fase previa se mantiene en la parte superior de la hoja en las formas intermedias.

tringido al meristemo apical, los tejidos y órganos juveniles, que se forman primero, se localizan en la base del brote. En las especies herbáceas que florecen rápidamente, la fase juvenil puede durar únicamente unos días, y producir pocas estructuras juveniles. Por el contrario, las especies leñosas tienen una fase juvenil mucho más larga, que en algunos casos puede durar de 30 a 40 años (Tabla 24.1). En estos casos las estructuras juveniles pueden ser una parte significativa de la planta madura.

Una vez que los meristemos han iniciado el cambio a la fase adulta, sólo se producen estructuras vegetativas adultas, que culminan con la evocación floral. Por ello, las fases adulta y reproductiva están localizadas en las regiones superiores y periféricas del vástago.

Parece ser que para la determinación de la transición a la fase adulta es mucho más importante alcanzar un tamaño suficientemente grande que la edad cronológica de la planta. Las condiciones que retrasan el crecimiento, como deficiencias minerales, poca luz, estrés hídrico, defoliación y baja temperatura, tienden a prolongar la fase juvenil e incluso provocar un **rejuvenecimiento** (recuperación de la juvenilidad) de los brotes adultos. Por el contrario, las condiciones que promueven el crecimiento vi-

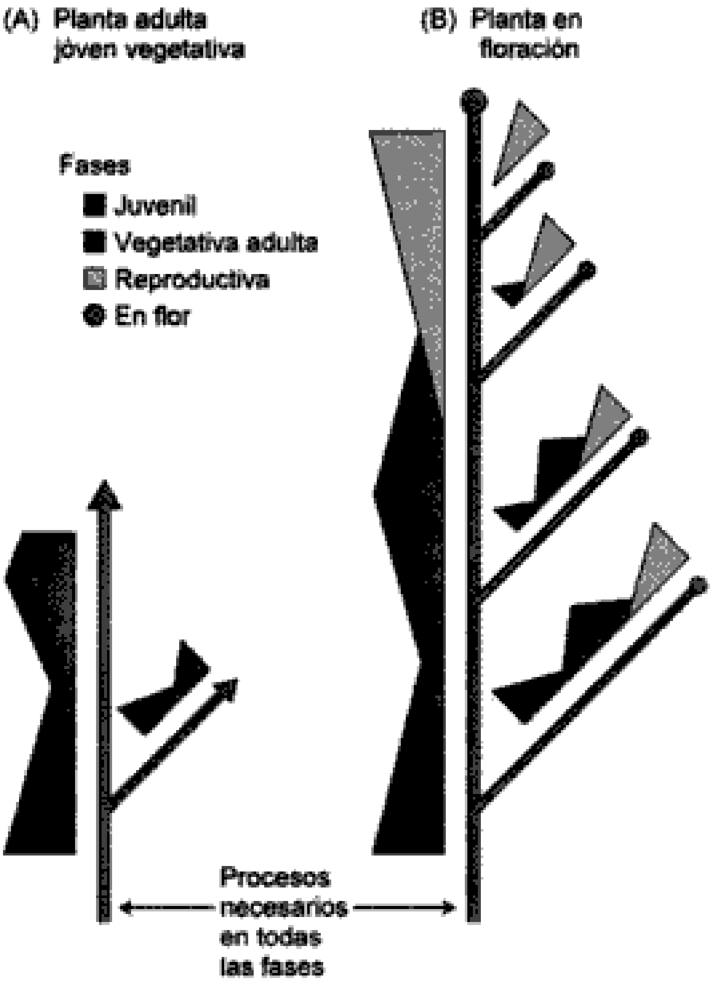


Figura 24.11 Representación esquemática del modelo combinatorio de desarrollo en brotes de maíz. El solapamiento de los gradientes de expresión de las fases juvenil, vegetativa adulta y reproductiva adulta se indica junto con la longitud del eje principal y de las ramas. La línea continua negra representa los procesos que son necesarios durante todas las fases del desarrollo. Cada una de las tres fases puede ser regulada por programas de desarrollo separados, con fases intermedias que se alcanzan cuando los programas se solapan. (A) Planta adulta joven vegetativa. (B) Planta floreciendo. (Según Poethig 1990.)

goroso aceleran la transición a la fase adulta. Cuando el crecimiento se acelera, la exposición a un tratamiento inductor adecuado de la floración puede provocar la floración.

Aunque el tamaño de la planta parece ser el factor más importante, no se conoce qué componente asociado al tamaño es crítico. En algunas especies de *Nicotiana*, parece que la planta debe producir un cierto número de hojas para transmitir suficiente cantidad de estímulos florales al ápice.

Una vez se ha alcanzado la fase adulta, ésta es relativamente estable, y se mantiene durante la propagación vegetativa o injerto. Por ejemplo, en plantas maduras de hiedra (*Hedera helix*), estaquillas obtenidas de la región basal dan lugar a plantas juveniles, mientras que las obtenidas del ápice dan lugar a plantas adultas. Cuando el

Tabla 24.1
Duración del período juvenil en algunas especies de plantas leñosas

Especies	Duración del período juvenil
Rosa (*Rosa* [híbrido tea])	20-30 días
Vid (*Vitis* spp.)	1 año
Manzano (*Malus* spp.)	4-8 años
Citrus spp.	5-8 años
Hiedra (*Hedera helix*)	5-10 años
Secuoya (*Sequoia sempervirens*)	5-15 años
Arce (*Acer pseudoplantanus*)	15-20 años
Roble inglés (*Quercus robur*)	25-30 años
Haya europea (*Fagus sylvatica*)	30-40 años

Fuente: Clark 1983.

esqueje proviene de la base del abedul silvestre (*Betuna verrucosa*) y se injerta en patrones obtenidos de semillas, el injerto no florece en los dos primeros años. Por el contrario, los injertos florecen inmediatamente cuando son tomados de la parte superior del árbol en flor.

En algunas especies, el meristemo juvenil parece ser capaz de florecer, pero no recibe suficiente estímulo floral hasta que la planta ha alcanzado un tamaño adecuado. En mango (*Mangifera indica*), por ejemplo, se puede inducir la floración de plántulas juveniles cuando se injertan en un árbol maduro. En muchas otras especies leñosas, no obstante, el injerto sobre una planta madura en flor no induce la floración.

Los cambios de fase pueden estar influidos por nutrientes, giberelinas y otras señales químicas

La transición del ápice caulinar desde la etapa juvenil a la adulta podría verse afectada por algunos factores transmisibles desde el resto de la planta. En muchas plantas, la exposición a condiciones de poca luz prolonga la juvenilidad o causa el rejuvenecimiento. Una consecuencia importante de un régimen de poca luz es una reducción en el aporte de carbohidratos al ápice; así, el aporte de carbohidratos, especialmente de sacarosa, puede participar en la transición desde el estado juvenil al adulto. El aporte de carbohidratos como fuente de energía y materia prima puede afectar al tamaño del ápice. Por ejemplo, en crisantemo (*Chrysanthemum morifolium*), los primordios florales no se inician hasta que el ápice ha alcanzado un tamaño mínimo.

El ápice recibe una gran variedad de hormonas y otros factores del resto de la planta además de carbohidratos y otros nutrientes. Existen evidencias experimentales que indican que la aplicación de giberelinas provoca la formación de estructuras reproductivas en plantas juveniles de algunas familias de coníferas. La implicación de las GAs *endógenas* en el control de la reproducción lo corrobora el hecho de que otros tratamientos que aceleran la producción de conos en los pinos (como por ejemplo, la eliminación de raíces, el estrés hídrico y la falta de nitrógeno) suelen provocar un aumento de las GAs en la planta.

Por otro lado, aunque las giberelinas promueven la llegada a la madurez en las coníferas y en muchas herbáceas angiospermas, la GA_3 produce el rejuvenecimiento en *Hedera* y en otras angiospermas leñosas. El papel de las giberelinas en el control del cambio de fase es complejo, varía dependiendo de las especies y probablemente implica interacciones con otro tipo de factores.

La competencia y la determinación son dos etapas de la evocación floral

El término *juvenilidad* tiene un significado diferente en especies leñosas y en herbáceas. Mientras los meristemos de las herbáceas juveniles florecen en cuanto son injertados sobre plantas adultas en flor (véase el **tema web 24.3**), los meristemos juveniles leñosos no suelen hacerlo. ¿Qué diferencia hay entre los dos casos?

Numerosos trabajos en tabaco han demostrado que la evocación floral requiere que la yema apical pase a través de dos etapas de desarrollo (Figura 24.12) (McDaniel y col. 1992). Una etapa es la adquisición de la competencia. Se dice que una yema es **competente** si es capaz de florecer cuando recibe la señal de desarrollo apropiada.

Por ejemplo, si un brote vegetativo (esqueje) es injertado sobre un patrón en flor y el injerto florece inmediatamente, es capaz de responder al nivel de estímulo floral presente en el patrón y, por tanto, es competente. La incapacidad del injerto para florecer indicaría que el meristemo apical caulinar no ha alcanzado la competencia.

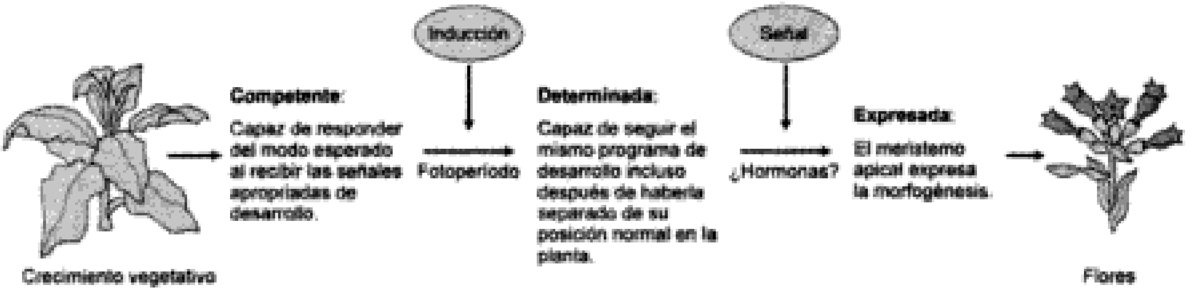

Inducción
Señal
Competente:
Capaz de responder del modo esperado al recibir las señales apropiadas de desarrollo.
Fotoperíodo
Determinada:
Capaz de seguir el mismo programa de desarrollo incluso después de haberla separado de su posición normal en la planta.
¿Hormonas?
Expresada:
El meristemo apical expresa la morfogénesis.
Crecimiento vegetativo
Flores

Figura 24.12 Modelo simplificado de la evocación floral en el ápice del brote en que las células del meristemo vegetativo adquieren nuevos destinos de desarrollo. Para iniciar el desarrollo floral, las células del meristemo antes deben ser competentes. Un meristemo vegetativo competente puede responder al estímulo floral (inducción) y llegar a estar floralmente determinado (comprometido para producir una flor). Normalmente el estado determinado se expresa, pero puede requerir una señal adicional. (Según McDaniel y col. 1992.)

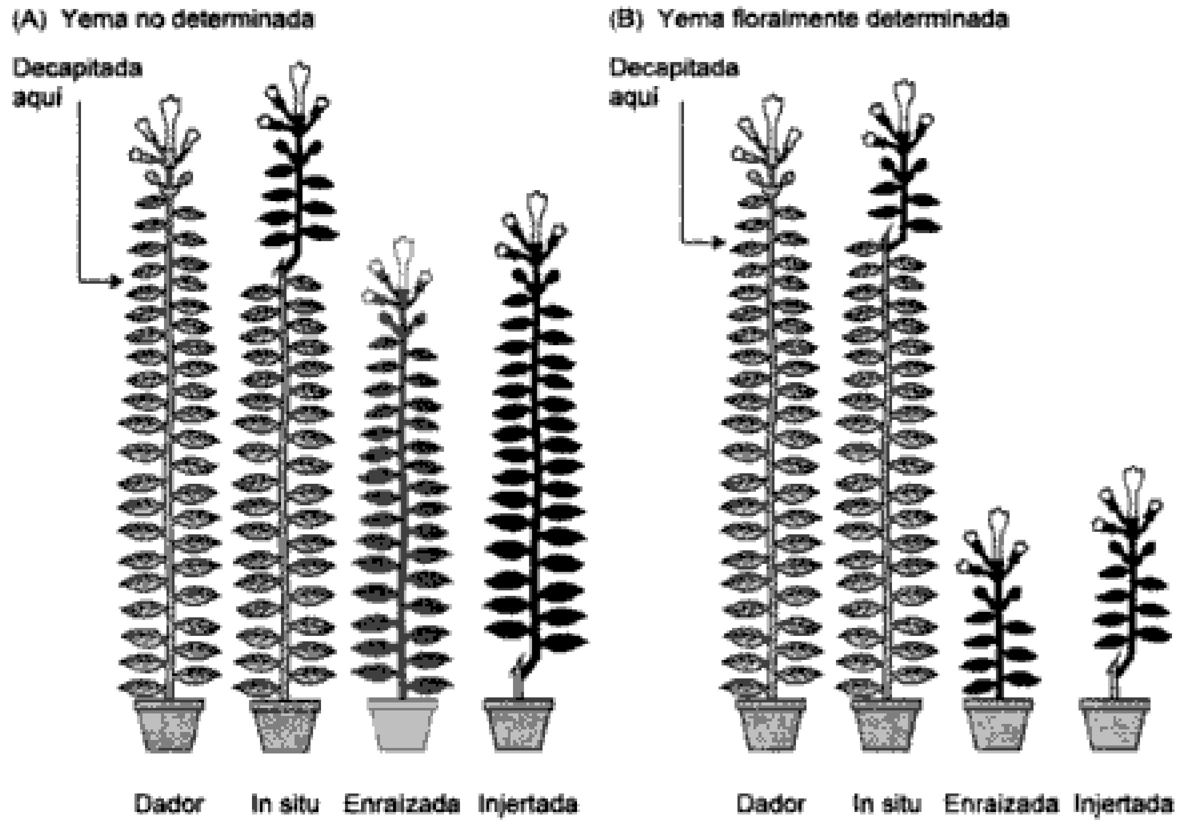


Figura 24.13 Demostración del estado determinado de las yemas axilares en tabaco. Una yema axilar específica de una planta en flor dadora es forzada a crecer, bien directamente sobre la planta (in situ) por decapitación o bien por enraizamiento o injerto en la base de la planta. Las nuevas hojas y flores producidas por la yema axilar se indican como hojas más oscuras. (A) El resultado cuando la yema no está determinada. (B) El resultado cuando la yema esta determinada floralmente. (Según McDaniel 1996.)

Así, los meristemos florales de las plantas herbáceas son competentes para florecer, pero los de las especies leñosas no.

La siguiente etapa que sufre una yema vegetativa competente es la determinación. Se dice que una yema está **determinada** si pasa a la siguiente etapa del desarrollo (la floración) incluso después de haber sido separada de su contexto normal. Así, una yema determinada floralmente producirá flores incluso si es injertada sobre una planta vegetativa que no está produciendo ningún estímulo floral.

En plantas de tabaco de día neutro, por ejemplo, las plantas suelen florecer cuando han producido unas 41 hojas o nudos. En un experimento realizado para medir la determinación floral de las yemas axilares, se decapitaron plantas de tabaco en flor justo por debajo de la hoja treinta y cuatro (desde abajo). Eliminada la dominancia apical, la yema axilar de la hoja treinta y cuatro creció y, después de producir 7 hojas más (hasta formar un total de 41), floreció (Figura 24.13A) (McDaniel 1996). No obstante, si se escindía la yema treinta y cuatro de la planta y bien se enraizaba o se injertaba sobre un patrón sin hojas cerca de la base, producía el conjunto completo de

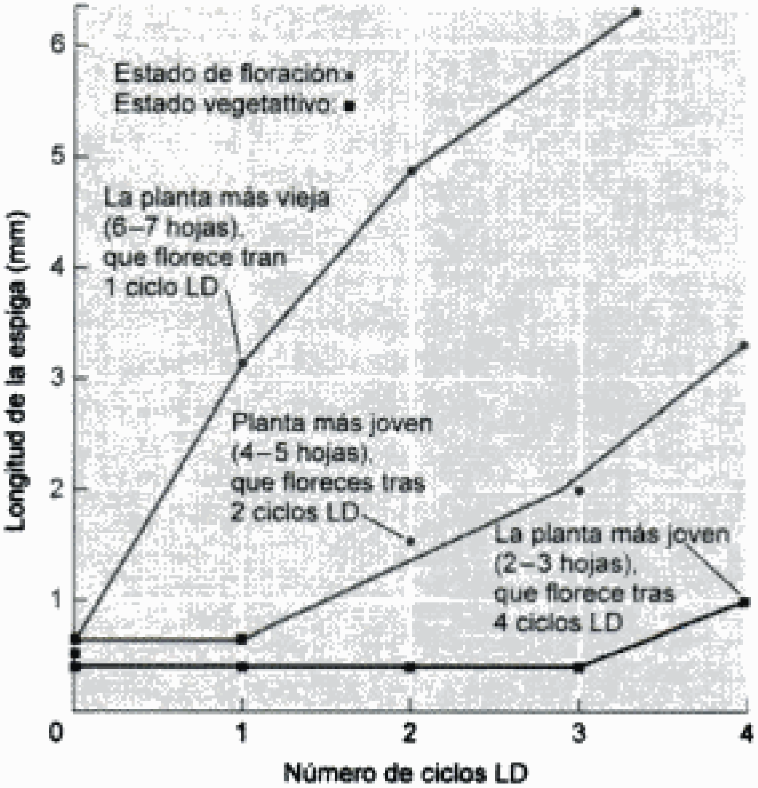


Figura 24.14 Efecto de la edad de la planta en el número de ciclos inductivos de día largo (LD) necesarios para la floración en la planta de día largo *Lolium temulentum* (cizaña). Un ciclo inductivo de día largo consistió en 8 horas de luz solar seguidas de 16 horas de luz incandescente de baja intensidad. Cuanto mayor es la edad de la planta menor es el número de ciclos requeridos para inducir la floración.

hojas (41) antes de florecer. Este resultado muestra que la yema treinta y cuatro no estaba todavía determinada floralmente.

En otro experimento, la planta dadora fue decapitada por encima de la hoja treinta y siete. En este caso la yema axilar treinta y siete floreció después de producir cuatro hojas *en las tres situaciones* (véase la figura 24.13B). Este resultado demuestra que la yema terminal había alcanzado la determinación floral después de iniciar 37 hojas.

Los numerosos experimentos realizados injertando ápices caulinares entre variedades de tabaco han establecido que el número de nudos que produce un meristemo antes de florecer es función de dos factores: (1) la fuerza del estímulo floral de las hojas y (2) la competencia del meristemo de responder a la señal (McDaniel y col. 1996).

En algunos casos la **expresión** de la floración se puede retrasar o incluso detenerse después de que el ápice llegue a estar determinado, a menos que reciba una segunda señal de desarrollo que estimule la expresión (véase la figura 24.12). Por ejemplo, plantas completas de *Lolium temulentum* (cizaña) llegaron a florecer tras una única exposición a un día largo. Si se separa el meristemo apical caulinar 28 horas tras el inicio del día largo y se cultiva *in vitro*, es capaz de producir inflorescencias normales en el cultivo, pero únicamente si el ácido giberélico (GA) está presente en el medio. Como los ápices cultivados de plantas desarrolladas en días cortos nunca florecen, incluso en presencia de GA, se puede concluir que en *Lolium* son necesarios días largos para la determinación, mientras que se requiere GA para la *expresión* del estado determinado.

En general, una vez que un meristemo llega a ser competente, muestra una tendencia creciente a florecer con la edad (número de hojas). Por ejemplo, en plantas controladas por la duración del día, el número de ciclos de día corto o de día largo necesarios para llegar a florecer normalmente es menor en las plantas de mayor edad (Figura 24.14). Como analizaremos posteriormente en este capítulo, esta tendencia progresiva a la floración con la edad tiene una base fisiológica por la mayor capacidad de las hojas para producir estímulos florales.

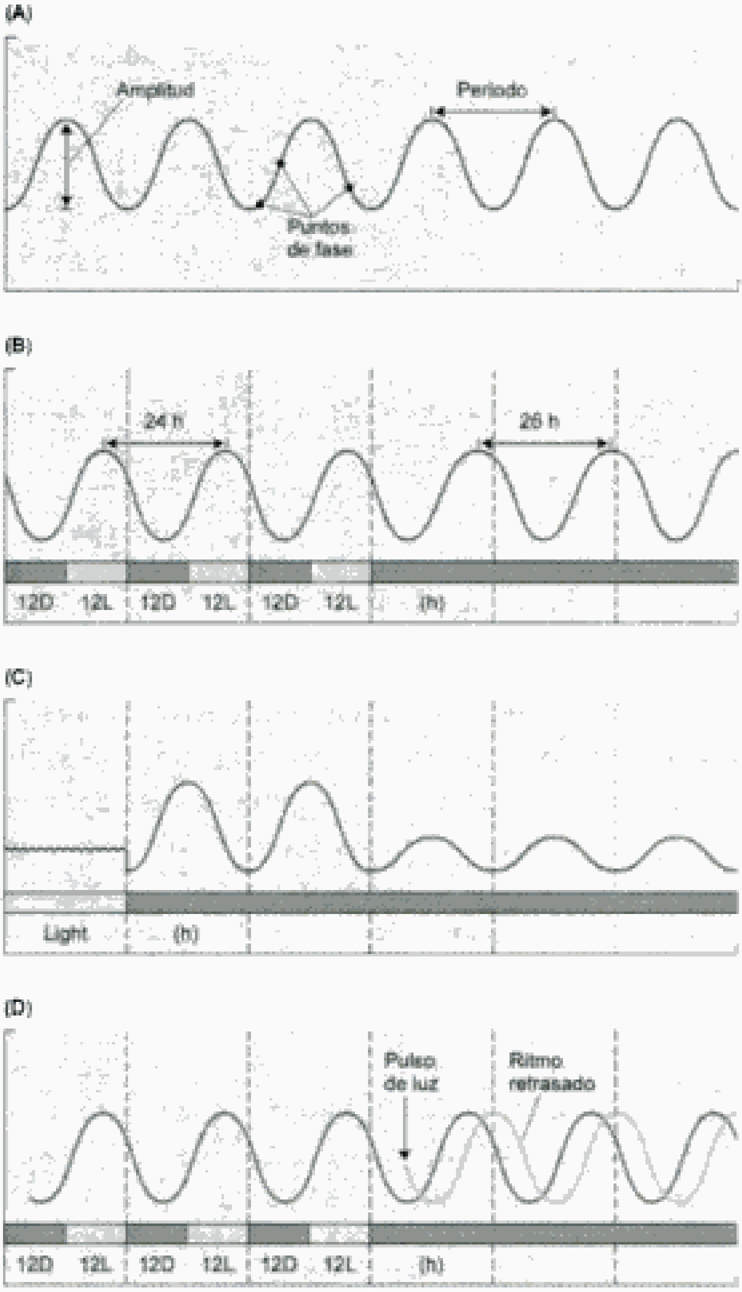
Antes de analizar cómo perciben las plantas la duración del día, estudiaremos las bases de cómo miden los organismos en general el paso del tiempo. Este tema se conoce como **cronobiología**, o estudio de los **relojes biológicos**. El reloj biológico mejor conocido es el ritmo circadiano.

LOS RITMOS CIRCADIANOS: EL RELOJ INTERIOR

Los organismos normalmente están sometidos a ciclos diarios de luz y oscuridad, y tanto las plantas como los animales muestran un comportamiento rítmico asociado a dichos cambios. Entre los ejemplos de dichos ritmos podemos citar los movimientos de las hojas y pétalos (posiciones diurnas y nocturnas), apertura y cierre estomático, patrones de crecimiento y esporulación en hongos (por ejemplo, en *Pilobolus* y *Neurospora*), el momento del día de la emergencia de la pupa (en la mosca de la fruta *Drosophila*) y los ciclos de actividad en los roedores, así como procesos metabólicos como la capacidad fotosintética y la tasa respiratoria.

Cuando los organismos pasan de ciclos diarios de luz-oscuridad a oscuridad contínua (o luz débil contínua), muchos de estos ritmos continúan expresándose, al menos durante varios días. En estas condiciones uniformes, el periodo del ritmo es de unas 24 h y, por ello, se le designa con el término de ritmo circadiano (véase el capítulo 17). Dado que los ritmos continúan en un entorno de luz o de oscuridad constante, estos ritmos circadianos no son una respuesta directa a la presencia o ausencia de luz, y deben estar basados en un marcador endógeno, que con frecuencia se denomina oscilador endógeno. En el capítulo 17 se describió un modelo para un oscilador endógeno en plantas.

El oscilador endógeno está acoplado a una gran variedad de procesos fisiológicos, como el movimiento de la hoja o la fotosíntesis, y mantiene el ritmo. Por esta razón, el oscilador endógeno puede ser considerado como el mecanismo de un reloj, y a



Un típico ritmo circadiano. El **periodo** es el tiempo entre dos puntos comparables en un ciclo repetitivo: la **fase** es cualquier punto del ciclo repetitivo reconocible por su relación con el resto del ciclo; la **amplitud** es la distancia entre un pico y un valle.

Un ritmo circadiano acostumbrado a un ciclo de 24 h de luz-oscuridad (L–D) y su cambio a un periodo libre (26 h en este ejemplo) y la posterior transferencia a oscuridad continua.

La interrupción de un ritmo circadiano con luz brillante continua, la liberación o reinicio del ritmo y la posterior transferencia a oscuridad.

Una respuesta típica de cambio de fase debida a un breve pulso de luz dado después de su transferencia a la oscuridad. El ritmo se retrasa sin que cambie su periodo.

Figura 24.15 Algunas características de los ritmos circadianos.

El reloj circadiano no tendría valor para el organismo si no pudiera mantener el tiempo de forma precisa en las condiciones cambiantes de temperatura que experimenta en condiciones naturales. De hecho, el efecto de la temperatura sobre la periodicidad del ritmo libre es nulo o muy pequeño. La característica que permite al reloj mantener el tiempo correcto a diferentes temperaturas se denomina **compensación de la temperatura**. Aunque todos los pasos bioquímicos de la ruta son sensibles a la temperatura, probablemente sus respuestas a la temperatura se cancelan mutuamente. Por ejemplo, se podrían compensar los cambios en la tasa de síntesis de que provocan el desplazamiento de fase indican que la respuesta a la luz está mediada por fotorreceptores específicos más que por la tasa fotosintética. Por ejemplo, la sincronización con la luz del rojo de los movimientos rítmicos nictonásticos de las hojas en *Samanea*, una leguminosa arbórea semitropical, es una respuesta de baja fluencia mediada por un fitocromo (véase el capítulo 17).

Arabidopsis tiene cinco fitocromos, y todos excepto uno de ellos (fitocromo C) han sido implicados en la sincronización del reloj. Cada uno de ellos actúa como un fotorreceptor específico para la luz del rojo, del rojo lejano o del azul. Además, las proteínas CRY1 y CRY2 participan en la sincronización del reloj a la luz del azul, del mismo modo a como lo hacen en insectos y mamíferos (Devlin y Kay 2000). Sorprendentemente, las proteínas CRY también parecen ser necesarias para la sincronización a la luz del rojo. Como estas proteínas no absorben luz del rojo, este requerimiento sugiere que CRY1 y CRY2 pueden actuar como intermediarios en la señalización del fitocromo durante la sincronización del reloj.

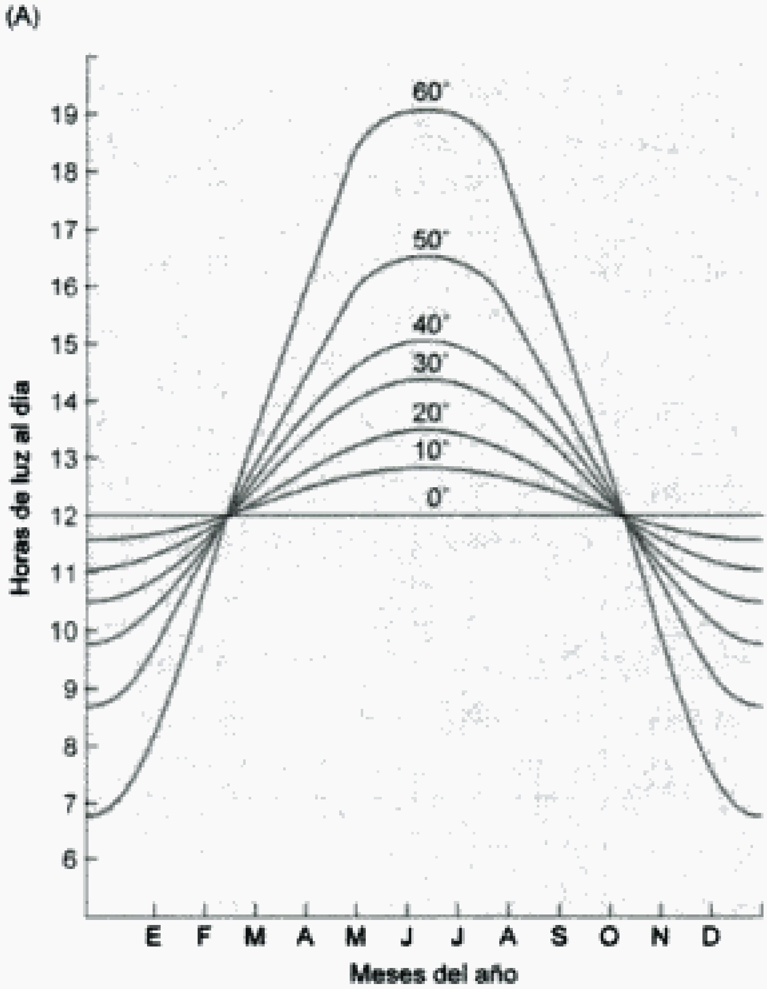
En *Drosophila*, las proteínas CRY interactúan físicamente con los componentes del reloj y constituyen parte del mecanismo del reloj (Devlin y Kay 2000). No obstante, este no parece ser el caso de *Arabidopsis*, en que el doble mutante *cry1/cry2* tiene ritmos circadianos normales. Precisamente queda por determinar en *Arabidopsis* cómo interactúan las proteínas CRY con el mecanismo oscilador endógeno para inducir el cambio de fase (Yanovsky y col. 2001).

FOTOPERIODISMO: EL SEGUIMIENTO DE LA DURACIÓN DEL DÍA

Como hemos visto, el reloj circadiano permite a los organismos determinar el momento del *día* en el que ocurre un determinado acontecimiento molecular o biológico. El **fotoperiodismo**, la capacidad de un organismo de detectar la duración del día, hace posible que un determinado acontecimiento tenga lugar en una época concreta del *año*, permitiendo una respuesta *estacional*. Los ritmos circadianos y el fotoperiodismo tienen en común la propiedad de responder a los ciclos de luz y oscuridad.

En el ecuador, la duración del día y de la noche son iguales y constantes a lo largo de todo el año. A medida que uno se mueve hacia los polos, los días se hacen más largos en verano y más cortos en invierno (Figura 24.16). Evidentemente, las especies vegetales han evolucionado para detectar estos cambios estacionales que hacen variar la duración del día, y sus respuestas fotoperiódicas específicas están fuertemente influidas por la latitud a la que crecen.

Estos fenómenos fotoperiódicos son comunes tanto en animales como en plantas. En el reino animal, la duración del día controla actividades estacionales tales como la hibernación, el desarrollo de pelajes de verano o de invierno y la actividad reproductiva. Las respuestas de las plantas controladas por la duración del día son nume-



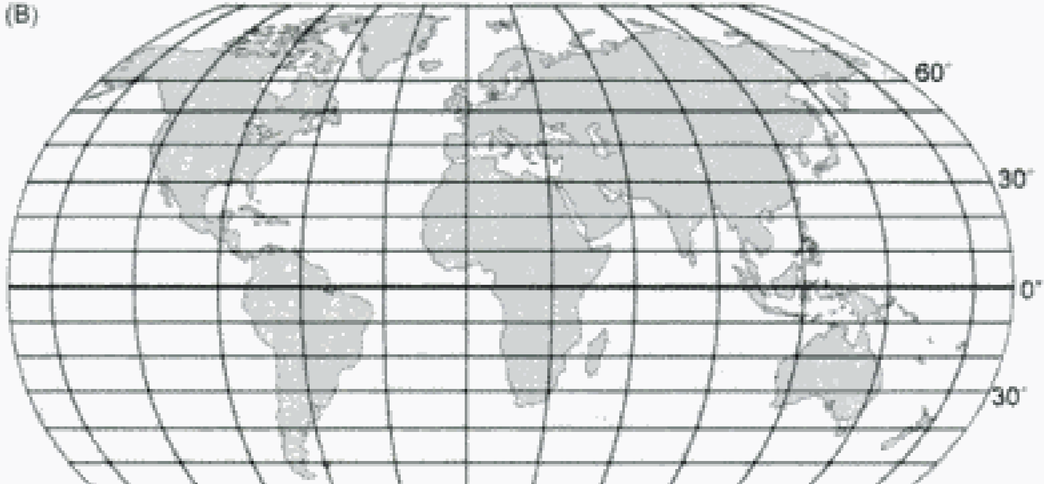


Figura 24.16 (A) El efecto de la latitud en la duración del día en diferentes momentos del año. La duración del día fue medida el veinte de cada mes. (B) Mapa del mundo mostrando las longitudes y latitudes.

ción de las plantas. Este requerimiento de día corto era difícil de adecuar con la idea de que períodos más largos de radiación, y el consiguiente aumento en la fotosíntesis, promovía la floración en general. Garner y Allard concluyeron que la duración del día era un factor determinante en la floración y fueron capaces de confirmar esta hipótesis en un gran número de especies y condiciones diferentes. Este trabajo sentó las bases de posteriores investigaciones de las respuestas fotoperiódicas.

La clasificación de las plantas en base a las respuestas fotoperiódicas se hace normalmente de acuerdo a la floración, a pesar de que otros muchos aspectos del desarrollo vegetal pueden verse afectados por la duración del día. Los dos grandes grupos de respuesta fotoperiódica son plantas de día corto y plantas de día largo:

1. **Las plantas de día corto o SDPs** (del inglés *s*hort *d*ay *p*lants) florecen sólo en los días cortos (SDPs *cualitativas*) o su floración se ve acelerada por los días cortos (SDPs *cuantitativas*).
2. **Las plantas de día largo o LDPs** (del inglés *l*ong day *p*lants) florecen sólo en los días largos (LDPs *cualitativas*) o la floración se ve acelerada por los días largos (LDPs *cuantitativas*).

La principal diferencia entre las respuestas de día largo y de día corto es que la floración en las LDPs es promovida sólo cuando la duración del día *excede* una cierta duración, llamada **duración crítica del día**, en cada ciclo de 24 horas, mientras que la promoción de la floración en las SDPs necesita que la duración del día sea *inferior* a la duración crítica del día. El valor de la duración crítica del día varía mucho de unas especies a otras, y sólo cuando se examina la floración en un rango de longitudes de día se puede realizar la clasificación fotoperiódica correcta (Figura 24.18).

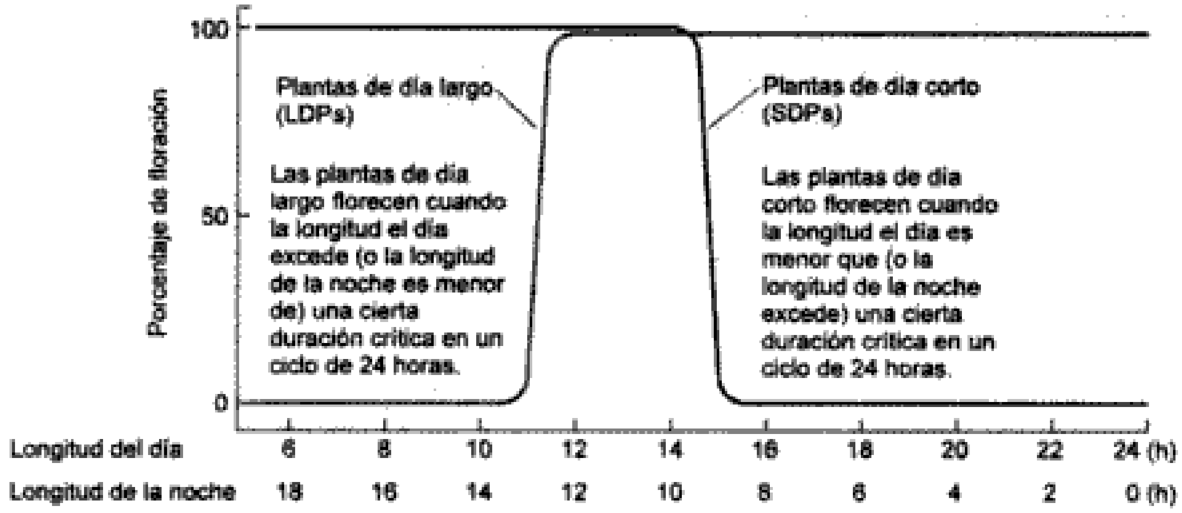


Figura 24.18 La respuesta fotoperiódica en plantas de día largo y corto. La duración crítica varía según las especies; en este ejemplo, tanto las SDP como las LDP florecerían en fotoperíodos entre 12 y 14 h de duración.

Las plantas de día largo pueden detectar el aumento de la duración del día en primavera o a principios de verano, y retrasar la floración hasta que se alcanza la duración crítica del día. Muchas variedades de trigo (*Triticum aestivum*) siguen este comportamiento. La floración de las SDPs normalmente tiene lugar en otoño cuando los días se acortan por debajo de la duración crítica del día, como en muchas variedades de *Chrisanthemum morifolium*. Sin embargo, la duración del día en sí es una señal ambigua porque no puede distinguir entre la primavera y el otoño.

Las plantas muestran varias estrategias para evitar esa ambigüedad. Una de ella es acoplar una temperatura determinada para que tenga lugar la respuesta fotoperiódica. Ciertas especies, como el trigo de invierno, no responden al fotoperíodo hasta que ha transcurrido un período frío (la vernalización). (Analizaremos la vernalización más adelante en este capítulo).

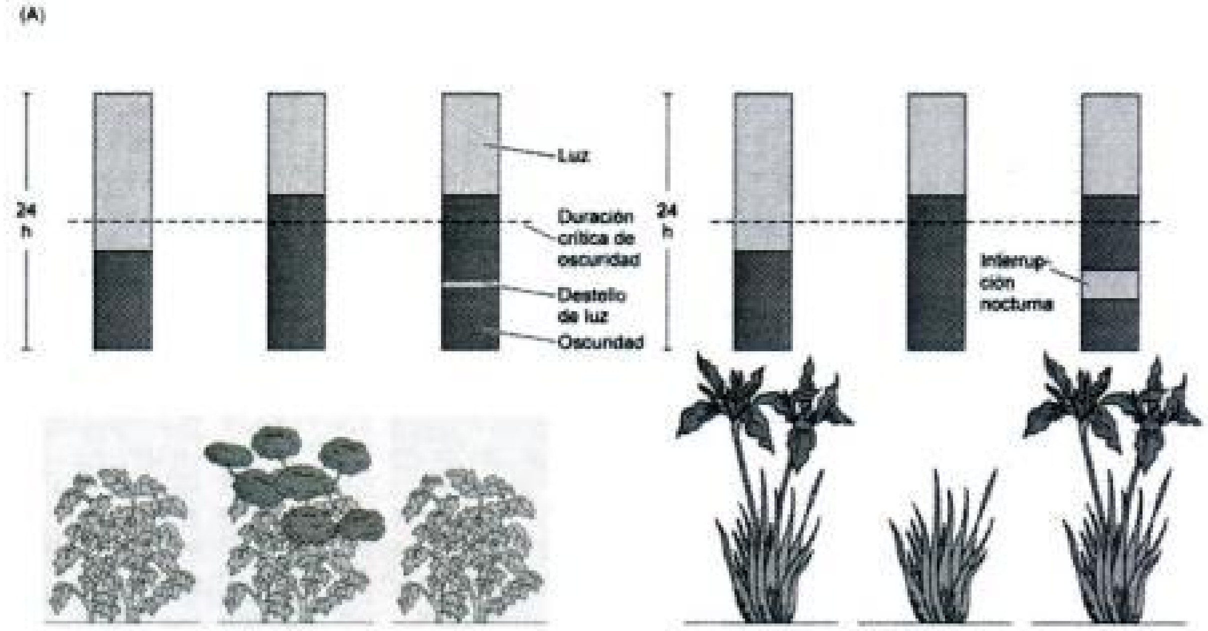
Otra estrategia para evitar la ambigüedad estacional es la capacidad de distinguir entre los días *que se acortan* y los días *que se alargan*. Estas «plantas de duración del día dual» se agrupan en dos clases:

1. **Las plantas de día largo-corto o LSDPs** (del inglés *l*ong *s*hort *d*ay *p*lants) florecen sólo después de una secuencia de días largos seguida de días cortos. LSDPs, como *Bryophyllum, Kalanchoe* y *Cestrum nocturnum* (jazmín), florecen a finales del verano y otoño, cuando los días se acortan.
2. **Las plantas de día corto-largo o SLDPs** (del inglés *s*hort *l*ong *d*ay *p*lants) florecen sólo después de una secuencia de días cortos seguida de días largos. SLDPs, como *Trifolium repens* (trébol), *Campanula medium* y *Echeveria harmsii*, florecen al principio de la primavera en respuesta al aumento en la duración del día.

Finalmente, las especies que florecen en cualquier condición fotoperiódica se las conoce como *plantas de día neutro*. Las **plantas de día neutro o DNPs** (del inglés *d*ay *n*eutral *p*lants) son insensibles a la duración del día. La floración de las DNPs está normalmente bajo regulación autónoma (es decir, controlada por el desarrollo interno). Algunas especies de día neutro como el guisante (*Phaseolus vulgaris*) se originaron cerca del ecuador donde la duración del día es constante todo el año. Muchas plantas anuales del desierto, como *Castilleja chromosa* (brocha del desierto) y *Abronia villosa* evolucionaron para germinar, crecer y florecer rápidamente si hay agua disponible. Estas plantas también son DNPs.

Las plantas detectan la duración del día midiendo la duración de la noche

En condiciones naturales, la duración del día y de la noche constituye un ciclo de 24 horas de luz y oscuridad. En principio, una planta podría percibir una duración crítica de día midiendo la duración bien de la luz o bien de la oscuridad. En los prime-


(A)
24 h
Luz
Duración crítica de oscuridad
Destello de luz
Oscuridad
24 h
Interrupción nocturna

Plantas de día corto

Las plantas de día corto (o de noche larga) florecen cuando la duración de la noches excede un período crítico. Una interrupción del período de oscuridad con un breve tratamiento luminoso (una interrupción nocturna) inhibe la floración.

Plantas de día largo

Las plantas de día largo (o de noche corta) florecen si la duración de la noche es más corta que un período crítico. En algunas plantas de día largo, el acortamiento de la noche con una interrupción nocturna induce a la floración.

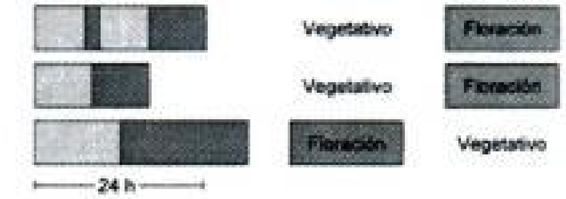

(B)
Tratamiento luminoso
Luz
Oscuridad
Respuesta a la floración
SDP
LDP
Floración
Vegetativo
Vegetativo
Floración
Vegetativo
Floración
Vegetativo
Floración
Vegetativo
Floración
Floración
Vegetativo
24 h

Figura 24.19 Regulación fotoperiódica de la floración. (A) Efectos en SDPs y LDPs (B) Efectos de la duración del período oscuro en la floración. El tratamiento de plantas de día corto y largo con diferentes fotoperíodos muestra claramente que la variable crítica es la duración del período oscuro.

ros estudios realizados sobre fotoperiodismo, muchos trabajos experimentales se dedicaron a establecer qué parte del ciclo de luz-oscuridad controla la floración. Los resultados demostraron que la floración en SDPs está determinada principalmente por la duración de la oscuridad (Figura 24.19A). Así, fue posible inducir la floración en SDPs con períodos de luz más largos que los del valor crítico, siempre y cuando fueran seguidos de noches suficientemente largas (Figura 24.19B). Del mismo modo, las SDPs no florecieron cuando los días cortos fueron seguidos de noches cortas.

Experimentos más detallados demostraron que la respuesta fotoperiódica en SDPs depende principalmente de la medida de la duración de la oscuridad. Por ejemplo, la floración sólo tiene lugar cuando el período de oscuridad supera las 8,5 horas en cadillo (*Xanthium strumarium*) o las 10 horas en soja (*Glycine max*). La duración de la oscuridad también es un factor importante en LDPs (véase la figura 24.19). Estas plantas florecían en días cortos, siempre y cuando un día corto fuera seguido de una noche también corta; sin embargo, días largos seguidos de noches largas fueron incapaces de inducir la floración.

La interrupción nocturna puede suprimir el efecto del período oscuro

Una característica que subraya la importancia del período oscuro es que la inducción de la floración puede anularse por la interrupción del período de oscuridad con un pequeño pulso de luz, llamado **interrupción nocturna** (véase la figura 24.19A). Por el contrario, la interrupción de un día largo con un breve período de oscuridad no

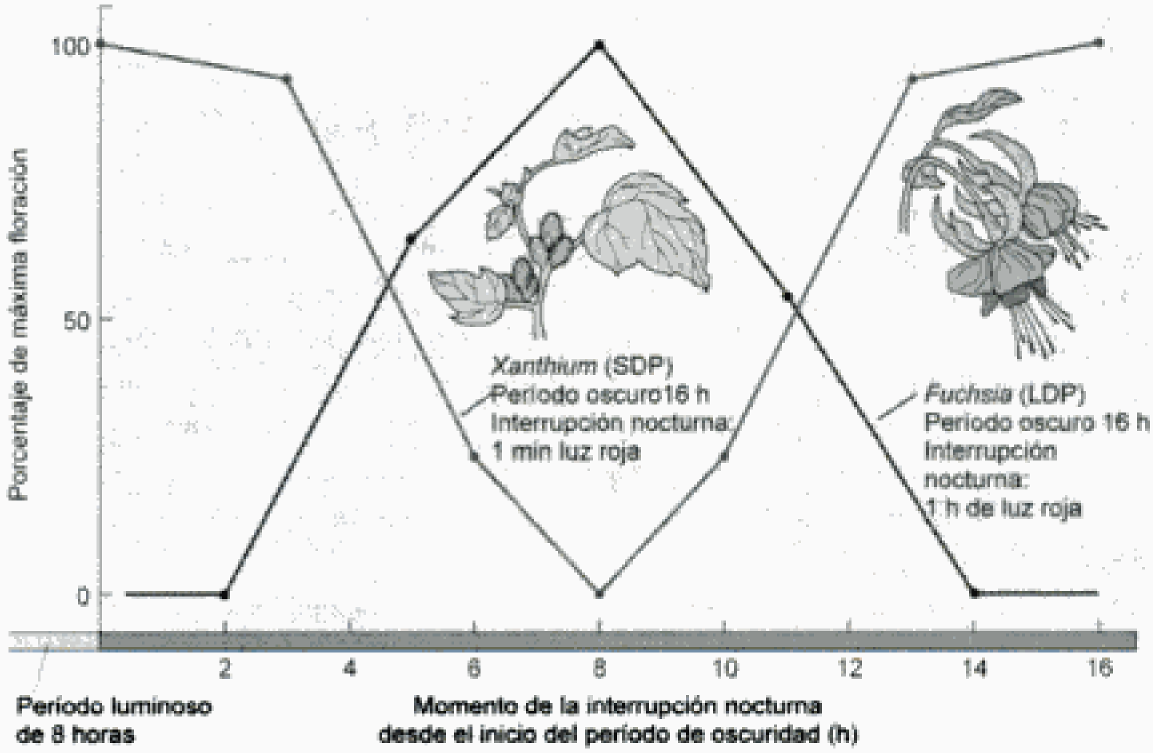


Figura 24.20 El momento en que se produce una interrupción nocturna determina la respuesta floracional. Cuando la interrupción nocturna se produce durante un período de oscuridad largo, dicha interrupción promueve la floración en LDPs e inhibe la floración en SDPs. En ambos casos, el mayor efecto sobre la floración se produce cuando la interrupción nocturna se produce cerca del punto medio de un período de 16 horas de oscuridad. A la LDP *Fuchsia* se la sometió a una exposición de 1 hora de luz del rojo en un período de 16 h de oscuridad. A *Xanthium* se la sometió a una exposición de 1 minuto de luz del rojo en un período de 16 horas. (Datos para *Fucsia* de Vince-Prue 1975; datos para *Xanthium* de Salisbury 1963 y Papenfuss y Salisbury 1967.)

suprime el efecto del día largo (véase la figura 24.19B). La aplicación de tratamientos de interrupción nocturna de sólo unos minutos son eficaces para evitar la floración en muchas SDPs, incluidas *Xanthium* y *Pharbitis*, pero se necesitan exposiciones más largas para *promover* la floración en LDPs.

Además, el efecto de la interrupción nocturna varía mucho dependiendo del momento en el que se da. Tanto para las SDPs como para las LDPs, se ha demostrado que la interrupción nocturna es más efectiva cuando se produce en la mitad de un período de oscuridad de 16 h (Figura 24.20).

El descubrimiento del efecto de la interrupción nocturna, y su dependencia del momento en el que tiene lugar, ha tenido importantes consecuencias. Permitió establecer el papel central del período de oscuridad y proporcionó un ensayo valioso para el estudio del ajuste fotoperiódico del tiempo. Debido a que se necesitan pequeñas cantidades de luz, fue posible estudiar la acción e identificación del fotorreceptor sin que los efectos interfirieran en la fotosíntesis y en otros fenómenos no fotoperiódicos. Este descubrimiento también ha permitido el desarrollo de métodos comerciales para regular el momento de la floración en plantas cultivadas como *Kalanchoe*, crisantemo y poinsetia (*Euphoria pulcherrima*).

El reloj circadiano está implicado en el ajuste fotoperiódico del tiempo

El efecto decisivo de la duración de la noche en la floración indica que la medida del paso del tiempo en oscuridad es fundamental en el ajuste fotoperiódico del tiempo. La mayoría de las evidencias disponibles favorecen un mecanismo basado en un ritmo circadiano (Bünning 1960). De acuerdo con la **hipótesis del reloj**, el ajuste fotoperiódico del tiempo depende de un oscilador circadiano endógeno del mismo tipo que el implicado en los ritmos diarios descritos en el capítulo 17 con relación al fitocromo. El oscilador central está acoplado a varios procesos fisiológicos, como la floración de especies fotoperiódicas, que implican la expresión génica.

La medida del efecto de la interrupción nocturna en la floración puede ser utilizada para investigar la función de los ritmos circadianos en el ajuste fotoperiódico del tiempo. Por ejemplo, cuando plantas de soja, que son SDPs, se transfieren de un período de 8 horas de luz a un período de oscuridad de 64 horas, la respuesta de la floración a la interrupción nocturna muestra un ritmo circadiano (Figura 24.21).

Esta clase de experimentos apoya la hipótesis del reloj. Si la SDP midiera la duración de la noche por la acumulación de un intermediario determinado en la oscuridad, cualquier período oscuro mayor que la duración crítica de la noche provocaría la floración. Sin embargo períodos más largos de oscuridad no son inductores de la floración si se produce una interrupción nocturna en un momento que no coincide con

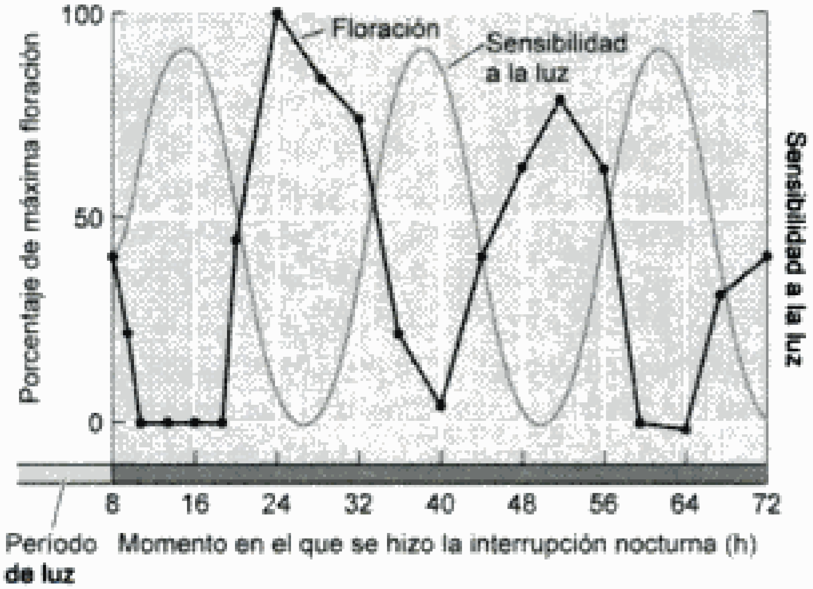


Figura 24.21 Floración rítmica en respuesta a interrupciones nocturnas. En este experimento, la SDP soja (*Glycine max*) recibió ciclos de 8 horas de luz seguidos de un período de oscuridad de 64 horas. Se produjo una interrupción nocturna de 4 horas de luz en varios momentos durante este largo período inductivo oscuro. La respuesta floracional, expresada como el porcentaje máximo, se representó durante cada una de las interrupciones nocturnas. Obsérvese que la interrupción nocturna dada a las 26 horas indujo el máximo de floración, mientras que no se produce floración cuando la interrupción nocturna se produjo a las 40 horas. Además, este experimento demuestra que la sensibilidad al efecto de la interrupción nocturna sigue un ritmo circadiano. Estos datos apoyan un modelo en el que la floración en SDPs es inducida únicamente cuando amanece (o se produce una interrupción nocturna) después de haberse completado una fase de sensibilidad a la luz. En LDPs la interrupción nocturna debe coincidir con la fase luminosa sensible para que se produzca la floración. (Datos de Coulter y Hamner 1964.)

la fase adecuada del oscilador circadiano. Este descubrimiento demuestra que la floración en SDPs requiere tanto de una duración suficiente de oscuridad como que la señal luminosa que interrumpe el período oscuro se produzca en determinados momentos del ciclo circadiano (véase la figura 24.15).

Una prueba adicional de la función del oscilador circadiano en el ajuste fotoperiódico del tiempo es el hecho de que la respuesta fotoperiódica puede desplazarse en el tiempo por tratamientos con luz (véase el **tema web 24.4**).

El modelo de coincidencia se basa en fases de sensibilidad a la luz

La implicación de un oscilador circadiano en el fotoperiodismo plantea una cuestión importante: ¿Cómo puede un oscilador con un período de 24 horas medir una duración crítica de oscuridad de 8 a 9 horas, como ocurre en la planta de día corto *Xanthium*? Erwin Bünning propuso en 1936 que el control de la floración por el fotoperiodismo se produce por una oscilación de fases con diferente sensibilidad a la luz. Esta propuesta ha evolucionado al **modelo de coincidencia** (Bünning 1960), en bloquean el transporte en el floema, como el anillado o temperaturas elevadas localizadas (véase el capítulo 10), impiden el movimiento del estímulo floral.

Es posible medir la velocidad a la que se mueve el estímulo floral, eliminando una hoja en diferentes momentos tras la inducción de la floración, y comparando el tiempo que tarda la señal en alcanzar dos yemas localizadas a diferentes distancias de la hoja inducida. La razón de este tipo de medida es que una cantidad umbral del compuesto de señalización ha alcanzado la yema cuando tiene lugar la floración, a pesar de la eliminación de la hoja.

Los estudios realizados empleando este método han demostrado que la velocidad de transporte de la señal de floración es comparable, o incluso se produce algo más lenta, que la velocidad de transporte de azúcares en el floema (véase el capítulo 10). Por ejemplo, la exportación del estímulo floral desde las hojas adultas a la SDP *Chenopodium* se completa en 22,5 horas desde el inicio del período oscuro. En la LDP *Sinapis*, el movimiento del estímulo floral de la hoja se completa tan sólo unas 16 horas después del inicio del tratamiento de día largo. Estas velocidades son coherentes con un estímulo floral que se mueve en el floema (Zeevaart 1976).

Como el estímulo floral es transportado junto con los azúcares en el floema, está sujeto a relaciones fuente-sumidero. Una hoja inducida colocada cerca del ápice caulinar es más probable que provoque floración que una hoja que se encuentra en la base del tallo, que normalmente suministra a las raíces. Del mismo modo, hojas no inducidas colocadas entre la hoja inducida y la yema apical tenderán a inhibir la floración al actuar como las hojas fuente preferentes de la yema, impidiendo así que el estímulo floral de la hoja inducida más distal alcance su diana. Esta inhibición también explica por qué se necesita una determinada cantidad de fotosíntesis para que la hoja inducida dirija el transporte.

El fitocromo es el principal fotorreceptor en el fotoperiodismo

Los experimentos de interrupción nocturna han aportado buenos resultados para estudiar la naturaleza de los fotorreceptores implicados en la percepción de las señales luminosas durante la respuesta fotoperiódica. En SDPs, la inhibición de la floración por interrupción nocturna fue uno de los primeros procesos fisiológicos que se supo que estaban bajo el control del fitocromo (Figura 24.22).

En muchas SDPs, la interrupción nocturna sólo es efectiva cuando la dosis de luz que se aplica es suficiente como para saturar la fotoconversión de Pr (la forma del fitocromo que absorbe la luz del rojo) a Pfr (la forma del fitocromo que absorbe la luz del rojo lejano) (véase el capítulo 17). Una exposición posterior a la luz del rojo lejano, que fotoconvierte el pigmento de vuelta a la forma fisiológicamente inactiva, restablece la respuesta a la floración.

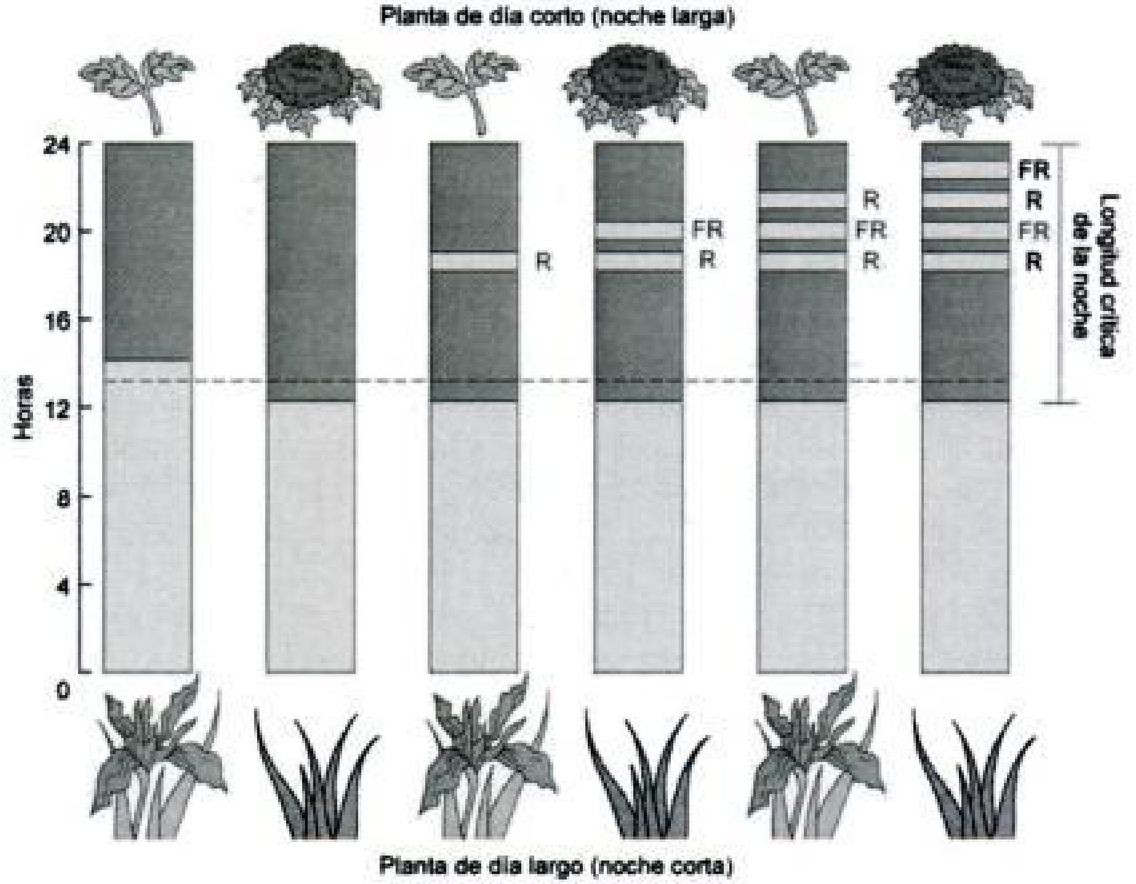

Planta de día corto (noche larga)
24
20
16
12
8
4
0
Horas
R
FR
R
R
FR
R
FR
R
FR
R
Longitud crítica de la noche
Planta de día largo (noche corta)

Figura 24.22 Control de la floración por el fitocromo por luz del rojo (R) y del rojo lejano (FR). Un pulso de luz del rojo durante el período oscuro induce la floración en LDPs y el efecto es contrarrestado por un destello de luz del rojo lejano. Esta respuesta demuestra la implicación del fitocromo. En SDPs, un destello de luz del rojo evita la floración y dicho efecto es contrarrestado por un pulso de luz del rojo lejano.

En algunas LDPs, también se ha demostrado la reversibilidad del rojo y del rojo lejano. En estas plantas, una interrupción nocturna en el rojo promueve la floración y la subsiguiente exposición al rojo lejano evita esta respuesta.

La figura 24.23 muestra el espectro de acción para la inhibición y restauración de la respuesta a la floración en SDPs. El pico a 660 nm, la absorción máxima de Pr (véase el capítulo 17), se obtuvo utilizando plántulas de *Pharbitis* desarrolladas en oscuridad, para evitar las interferencias de la clorofila. Por el contrario, los espectros para *Xanthium* proporcionan un ejemplo de la respuesta de plantas verdes, en que la presencia de clorofila puede provocar alguna discrepancia entre el espectro de acción y el espectro de absorción de Pr. Estos espectros de acción y la reversibilidad entre el rojo y el rojo lejano confirman el papel del fitocromo como el fotorreceptor implicado en la medida del fotoperíodo en SDPs.

En LDPs la función del fitocromo es más compleja y parece que también participa un fotorreceptor de luz del azul (que se analizará brevemente) en el control de la floración.

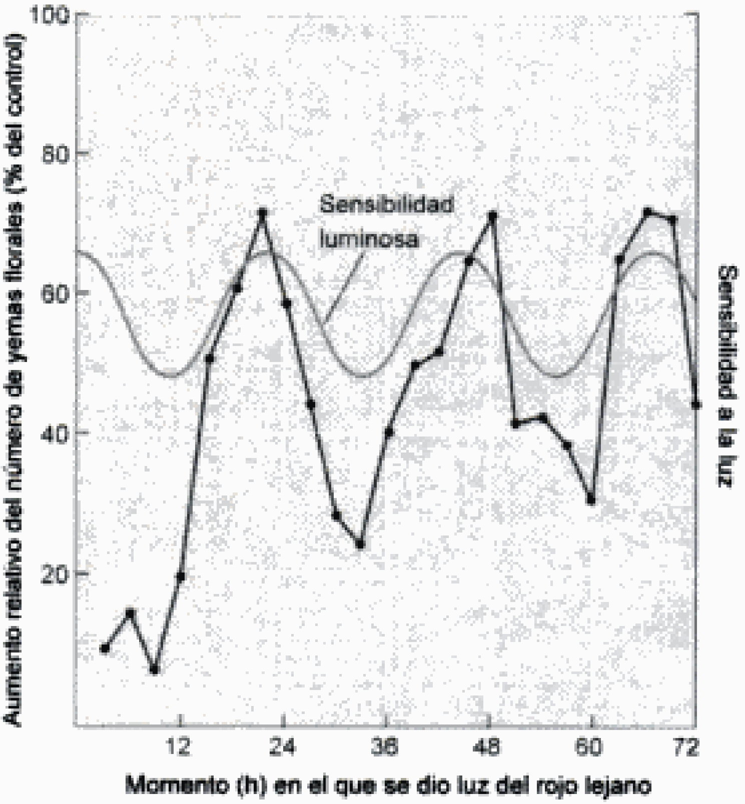


Figura 24.24 Efecto de la luz del rojo lejano en la inducción floral en *Arabidopsis*. Se aportaron cuatro horas de luz del rojo lejano en los momentos indicados durante un período continuo de luz de 72 horas. Los puntos de la gráfica están representados en la mitad de los tratamientos de 6 horas. Los datos muestran un ritmo circadiano sensible a la luz del rojo lejano para promover la floración (línea). Esto apoya un modelo en el que la floración en LDPs se promueve cuando un tratamiento luminoso (en este caso de luz del rojo lejano) coincide con el pico de sensibilidad a la luz. (Según Deitzer 1984.)

La respuesta a la luz del rojo lejano no es la única característica rítmica en LDPs. Muchas LDPs, aunque relativamente insensibles a una interrupción nocturna de pocos minutos, pueden ser inducidas a florecer con una interrupción nocturna más larga, normalmente de más de una hora. En LDPs se ha observado una oscilación circadiana en la respuesta a una interrupción nocturna de larga duración, demostrando que el ritmo de respuesta a la luz continúa actuando en oscuridad.

Así pues, los ritmos circadianos que modifican la respuesta a la floración en LDPs son capaces de actuar tanto en luz (estimulación del rojo lejano) como en oscuridad (estimulación por luz del rojo o luz blanca). Sin embargo, todavía no se conoce cómo están acoplados estos ritmos circadianos a la respuesta fotoperiódica.

Un fotorreceptor de luz del azul también regula la floración

En algunas LDPs, como *Arabidopsis*, la luz del azul puede estimular la floración, sugiriendo la posible participación de un fotorreceptor de luz del azul en el control

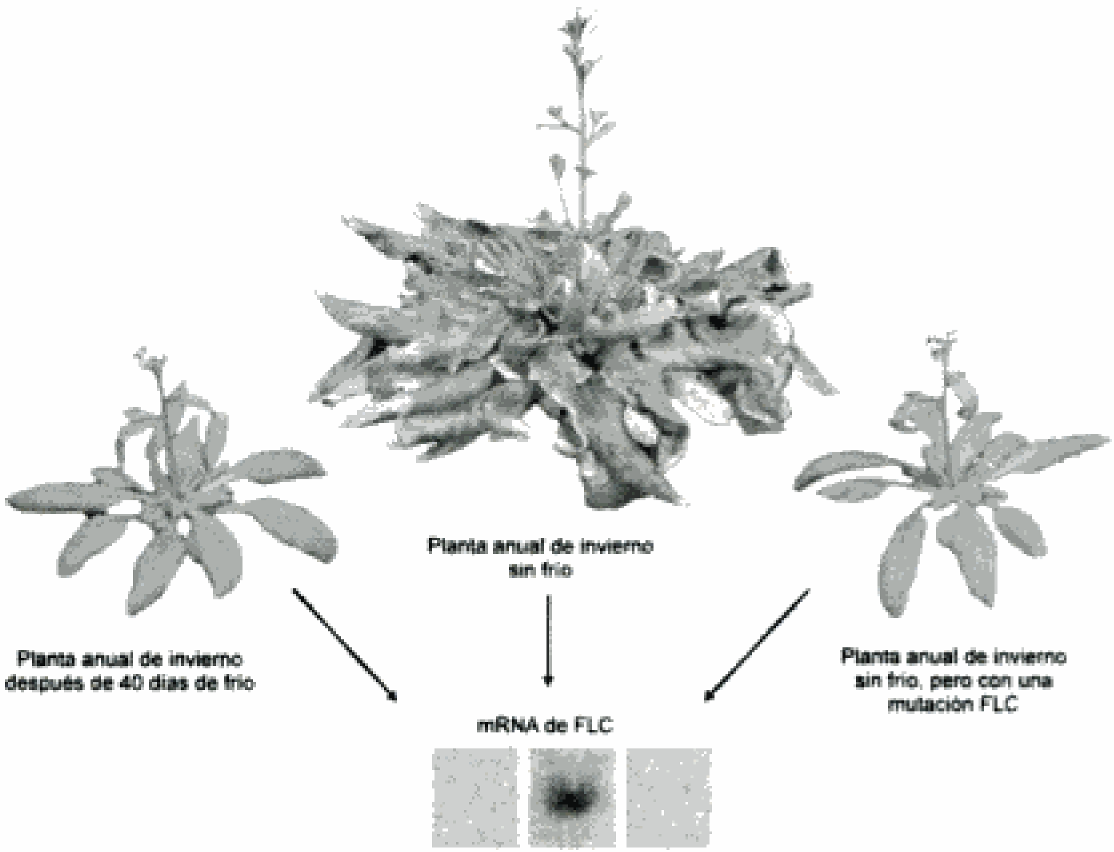


Figura 24.27 (Izquierda) La vernalización bloquea la expresión del gen *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*) en ecotipos anuales de *Arabidopsis* con requerimiento de frío. (Derecha) Una planta anual con una mutación en *FLC* muestra una floración temprana sin tratamiento de frío. (Foto cortesía de R. Amasino.)

SEÑALIZACIÓN BIOQUÍMICA IMPLICADA EN LA FLORACIÓN

En las secciones anteriores hemos analizado la influencia de las condiciones ambientales (como temperatura y duración del día) frente a factores autónomos (como edad) en la floración. Aunque la evocación floral se produce en los meristemos apicales del brote, algunos de los acontecimientos que se producen como consecuencia de la evocación floral son iniciados por señales bioquímicas que llegan al ápice desde otras partes de la planta, especialmente desde las hojas. Se han aislado mutantes deficientes en el estímulo floral (véase el **tema web 24.6**).

En esta sección consideraremos la naturaleza de las señales bioquímicas que llegan desde las hojas y otras partes de la planta en respuesta a un estímulo fotoperiódico. Estas señales pueden servir como activadores o inhibidores de la floración. Después de años de investigación, no se ha identificado una única sustancia como el estímulo floral universal, aunque ciertas hormonas, como giberelinas y etileno, pueden inducir la floración en algunas especies. Por tanto, la mayoría de los modelos del estímulo floral se basan en factores múltiples.

Estudios realizados empleando injertos han demostrado la existencia de un estímulo floral transmisible

La producción de una señal bioquímica en una hoja inducida fotoperiódicamentente que actúa en un tejido diana lejano (el ápice caulinar) en el que estimula una respuesta (la floración) sugeriría un efecto hormonal. De hecho, el ruso Mikhail Chailakhyan postuló en los años 1930s la existencia de la hormona de la floración universal, el **florígeno**.

La principal evidencia de la existencia de un florígeno procede de experimentos con injertos en los que plantas no inducidas fueron estimuladas a florecer al injertarles una hoja o brote de plantas inducidas fotoperiódicamente. Por ejemplo, injertando una hoja de una planta SDP *Perilla crispa*, miembro de la familia de la menta, cultivada en días cortos inductivos en una planta que ha crecido en días largos no inductivos, provocaba que esta última floreciera (Figura 24.28). Además, el estímulo floral parece ser el mismo en plantas con requerimientos fotoperiódicos distintos. De esta forma, injertando una hoja inducida de la LDP *Nicotiana sylvestris*, cultivada bajo días largos, en la variedad SDP, Maryland Mammoth de tabaco provoca que esta última florezca en condiciones no inductivas (días largos).

También se ha demostrado que las hojas de DNPs son capaces de producir un estímulo floral transmisible por injerto (Tabla 24.2). Por ejemplo, el injerto de una única hoja de la variedad Agata de soja de día neutro, sobre una variedad de día corto, Biloxi, provoca la floración en Biloxi incluso cuando esta última se mantiene en condiciones no inductivas de días largos. Del mismo modo, una hoja de una variedad de día neutro de tabaco (*Nicotiana tabacum*, cv. Trapezond) injertada sobre la LDP *Nicotiana sylvestris* indujo a esta última a florecer en condiciones no inductivas de días cortos.

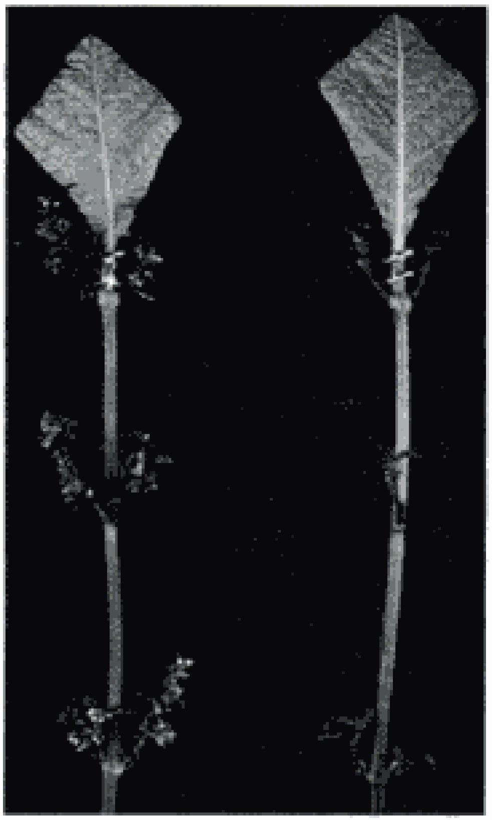


Figura 24.28 Demostración mediante injertos de la generación del estímulo floral en unas hojas de la SDP *Perilla*. (Izquierda) El injerto de una hoja inducida de una planta mantenida en días cortos sobre un brote no inducido provoca que los brotes axilares produzcan flores. La hoja dadora ha sido recortada para facilitar el injerto y las hojas superiores del patrón se han eliminado para promover el transporte en el floema del injerto a los brotes receptores. (Derecha) El injerto de una hoja no inducida de una planta que ha crecido en días largos da lugar únicamente a la formación de ramas vegetativas. (Foto cortesía de J. A. D. Zeevaart.)

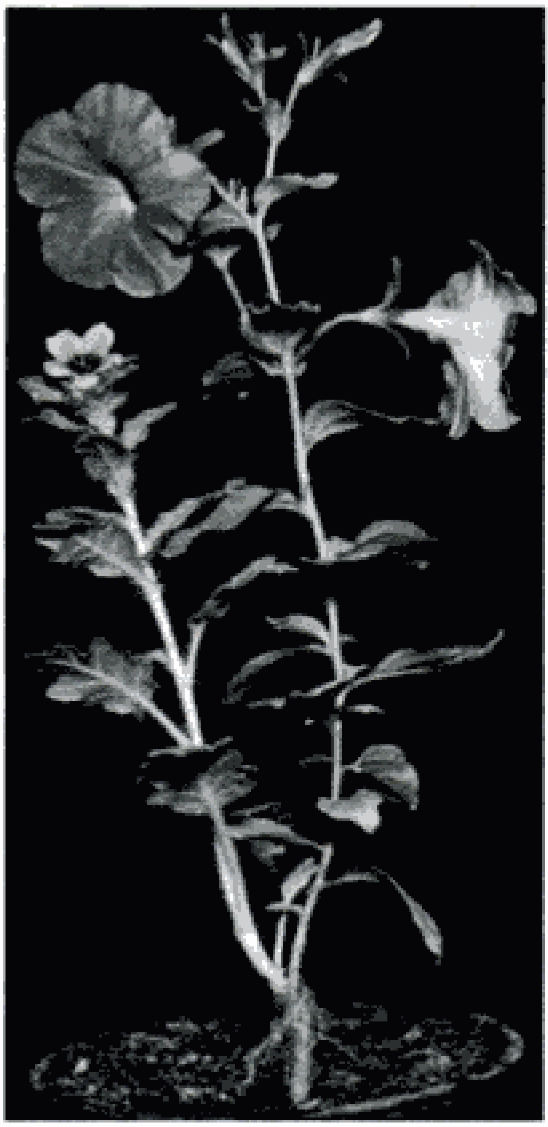


Figura 24.29 Transferencia con éxito del estímulo floral entre diferentes géneros: el injerto (rama de la derecha) es de la LDP *Petunia hybrida* y el patrón es *Hyoscyamus Níger*. La combinación injertada se mantuvo en condiciones de días largos. (Foto cortesía de J. A. D. Zeevaart.)

giere que el estado inducido de algún modo se propaga a toda la planta. Aunque esta característica del estímulo floral se ha descrito algunas veces como de tipo vírico, es improbable que el estímulo floral pueda multiplicarse como lo hace un virus. Más bien, es probable que el estímulo floral sea una molécula que induce su producción en un bucle de retroalimentación positiva. En *Xanthium* (cadillo), la eliminación de todas las yemas caulinares bloquea la inducción indirecta, indicando que se necesita el tejido meristemático, o quizás auxina, para la propagación del estado inducido.

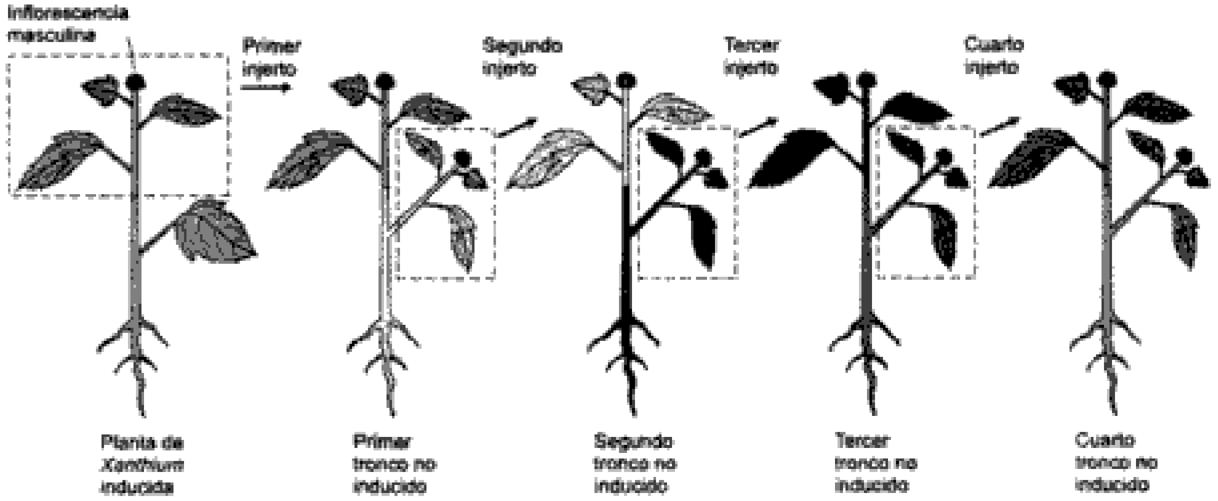
Por otro lado, la inducción indirecta no se produce en la SDP *Perilla*. En *Perilla*, sólo la hoja que percibe el fotoperíodo inductivo es capaz de transmitir el estímulo floral tras un injerto (véase la figura 24.30B). El estímulo floral de *Perilla* no se autopropaga como en *Xanthium*, *Bryophyllum* y *Silene*. Es posible que no exista en *Perilla* el mecanismo de retroalimentación descrito o el transporte del estímulo floral pueda estar restringido al meristemo, de forma que nunca entre en la hoja.

A diferencia de *Xanthium*, que requiere la presencia de una yema para la inducción estable, las hojas de *Perilla* pueden ser inducidas de forma estable cuando son separadas de la planta. Una vez inducidas, las hojas de *Perilla* no pueden ser desinducidas, y la misma hoja puede continuar siendo dadora del estímulo floral en injertos sucesivos, sin que se produzca una reducción en la potencia (Zeevaart 1976).

En algunas LDPs se han encontrado evidencias del antiflorígeno

Los estudios con injertos han aportado evidencias de la implicación de inhibidores transmisibles en la regulación de la floración. Estos inhibidores se conocen como **an-**

A) Se puede demostrar la inducción indirecta en una serie de experimentos de injertado de *Xanthium*.


Inflorescencia masculina
Primer injerto
Segundo injerto
Tercer injerto
Cuarto injerto
Planta de *Xanthium* inducida
Primer tronco no inducido
Segundo tronco no inducido
Tercer tronco no inducido
Cuarto tronco no inducido

(B) El injertado de una hoja inducida en una brote no inducido provoca la floración en muchos injertos de *Perilla*.

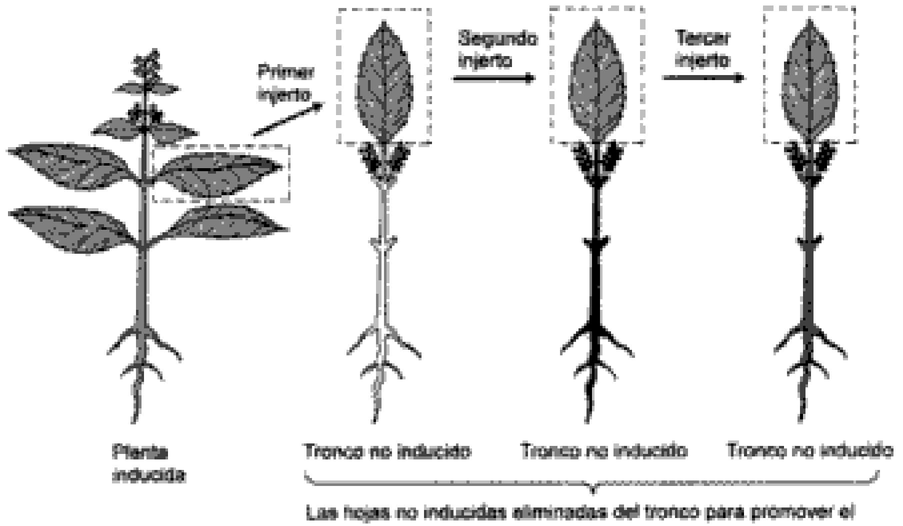

Primer injerto
Segundo injerto
Tercer injerto
Planta inducida
Tronco no inducido
Tronco no inducido
Tronco no inducido
Las hojas no inducidas eliminadas del tronco para promover el movimiento fuente-sumidero a la yema axilar desde la hoja inducida

Figura 24.30 Diferentes tipos de inducción en hojas de *Xanthium* y *Perilla*. (A) *Xanthium* muestra una inducción indirecta. Las hojas no inducidas de una planta inducida a florecer son capaces de inducir a otras plantas a florecer incluso aunque nunca hayan recibido un fotoperíodo inductivo. Esto sugiere que el estímulo floral se autopropaga. (B) En *Perilla* sólo la hoja que recibe el fotoperíodo inductivo es capaz de servir como dadora del estímulo floral. En *Perilla*, así como en *Xanthium*, una hoja puede continuar induciendo la floración en sucesivos experimentos de injerto (Según Lang 1965.)

tiflorígeno, pero (como el florígeno) el antiflorígeno puede constar de múltiples compuestos. Por ejemplo, el injerto de un brote vegetativo no inducido de la LDP *Nicotiana sylvestris* sobre tabaco día neutro Trapezond suprimió la floración en la planta de día neutro en condiciones de día corto, pero no en condiciones de día largo (Figura 24.31). Por otro lado, cuando un dador no inducido de la SDP Maryland Mammoth se injertó sobre Trapezond, no se produjo ningún efecto sobre la floración ni en días cortos ni en

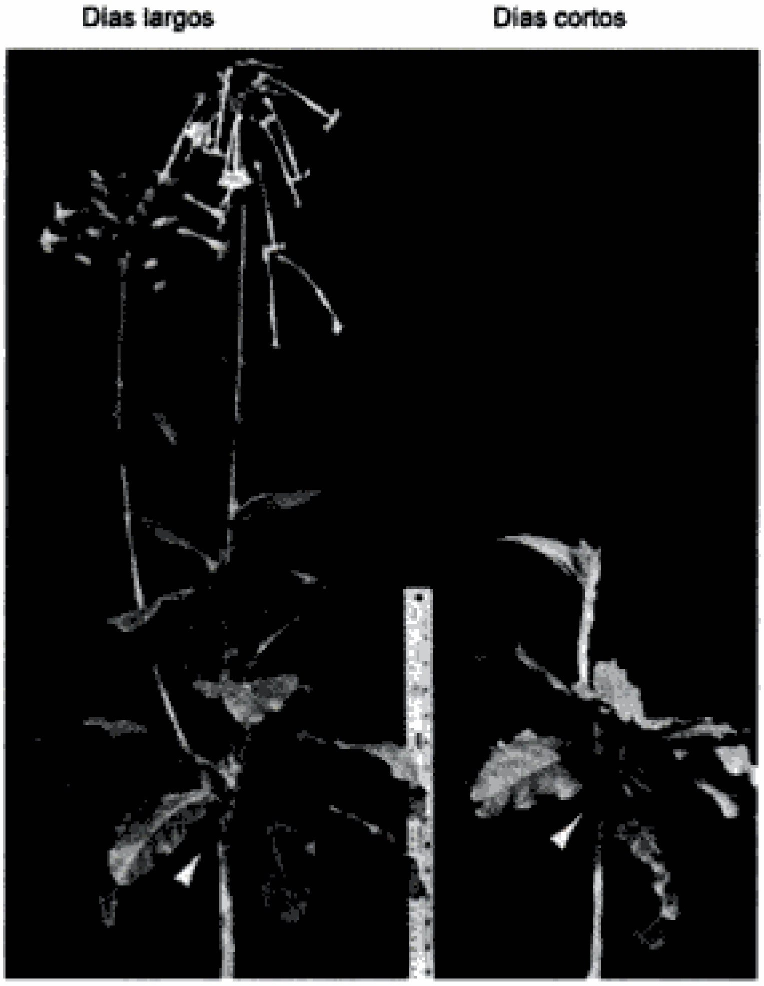


Figura 24.31 Transmisión por injerto de un inhibidor de la floración. Rosetas no inducidas de la LDP *Nicotiana sylvestris* se injertaron sobre el tabaco de día neutro (*Nicotiana tabacum*, cv. Trapezond). La floración de la planta de día neutro se impidió en días cortos (rama izquierda de la planta de la derecha), pero no en días largos (rama de la izquierda de la planta de la izquierda). Las flechas indican los sitios de unión de los injertos. (Según Lang y col. 1977.)

días largos. Estos y otros resultados similares sugieren que las hojas de las LDPs, pero no de las SDPs, producen inhibidores de la floración en condiciones no inductivas.

Estudios genéticos similares en guisante han conducido a la identificación de los loci que regulan etapas de las rutas biosintéticas de los activadores y de los inhibidores florales (véase el **tema web 24.5**).

Los intentos para aislar los reguladores florales transmisibles han sido infructuosos

Los numerosos intentos realizados para aislar y caracterizar el estímulo floral han resultado infructuosos. La prueba más frecuente ha sido obtener extractos del tejido vernalizadas. Como comentamos anteriormente, en plantas juveniles de varias familias de gimnospermas se puede inducir la formación de los conos por aplicación de GAs. Así, en algunas plantas, las GAs exógenas pueden sustituir el requerimiento endógeno de edad en la floración autónoma, así como las señales ambientales primarias de duración del día y temperatura.

Como analizamos en el capítulo 20, las plantas contienen numerosas giberelinas. La mayoría de ellas son precursores o metabolitos inactivos de las formas activas. En algunas situaciones se han diferenciado los efectos de las diferentes GAs sobre la floración y la elongación del tallo, como en la planta de día largo *Lolium temulentum* (cizaña) (véase el **tema web 24.9**).

Estas observaciones sugieren que la regulación de la floración puede estar asociada con GAs específicas, pero no prueba que la GA sea la hipotética hormona de la floración. De hecho, es probable que se necesite un cierto nivel de GA para que tenga lugar la floración en muchas especies, pero también que se requieran otros factores para que se produzca la floración. Por ejemplo, una mutación en la biosíntesis de GA hace que la LDP *Arabidopsis thaliana* sea incapaz de florecer en días cortos no inductivos y tenga poco efecto sobre la floración en días largos, demostrando que la GA endógena se necesita para que ocurra la floración en situaciones específicas (Wilson y col. 1992).

Se ha prestado una considerable atención a los efectos de la duración del día en el metabolismo de las GAs en plantas (véase el capítulo 20). Por ejemplo, en la planta de día largo espinaca (*Spinacia oleracea*), los niveles de giberelinas son relativamente bajos en días cortos y las plantas se mantienen en forma de roseta. Después de transferir las plantas a días largos, aumentan los niveles de todas las giberelinas de la ruta de hidroxilación del C13 ($G_{53} \rightarrow GA_{44} \rightarrow GA_{19} \rightarrow GA_{20} \rightarrow GA_1$; véase el capítulo 20). Sin embargo, el aumento en cinco veces del nivel de la giberelina fisiológicamente activa, GA_1, es el que provoca la elongación del tallo que acompaña a la floración.

Además de las GAs, otras hormonas del crecimiento pueden inhibir o promover la floración. Un ejemplo comercialmente muy importante es la promoción de la floración en la piña (*Ananas comosus*) por etileno y por sustancias que liberan etileno, una respuesta que parece estar restringida a miembros de las Bromeliáceas. Como analizaremos en la siguiente sección, el estímulo floral puede estar formado por muchos componentes y estos componentes pueden variar en diferentes grupos de plantas.

La transición hacia la floración implica a muchos factores y rutas

Es evidente que la transición a la floración implica un complejo sistema de factores que interaccionan y que incluyen, entre otros, carbohidratos, giberelinas y citoquininas, y en las Bromeliáceas, el etileno (véase el **tema web 24.10**). Las señales ductivos (días de 8 horas) a días largos inductivos (días de 16 horas). Nótese que el aumento de la expresión de *AGL20* puede detectarse a las 18 horas de haber iniciado el tratamiento de día largo (Borner y col. 2000). Así, sólo se requieren 10 horas tras los días cortos de 8 horas para que el meristemo empiece a responder al estímulo floral de las hojas. Este tiempo es coherente con las medidas anteriores de las tasas de exportación del estímulo floral desde las hojas inducidas (analizadas con anterioridad en este capítulo).

Aunque muchas rutas transcurren a través de *AGL20*, debe existir alguna redundancia en el sistema porque en los mutantes *agl20* sólo se produce un retraso de la floración, y no se bloquea completamente. Por tanto, debe haber uno o más genes capaces de sustituir la función de *AGL20* cuando dicho gen ha mutado.

Tras la activación por *AGL20*, *LFY* activa los genes homeóticos florales, *APETALA1* (*AP1*), *APETALA3* (*AP3*) *PISTILLATA* (*PI*) y *AGAMOUS* (*AG*), que son necesarios para el desarrollo de los órganos florales. *APETALA2* (*AP2*) se expresa en los meristemos vegetativos y florales y, por tanto, no se ve afectado por *LFY*. No obstante, como analizamos anteriormente, *AP2* ejerce un efecto negativo sobre la expresión de *AG* (véase la figura 24.6).

Además de actuar como un gen homeótico floral, *AP1* funciona como un gen de identidad del meristemo en *Arabidopsis* porque está implicado en un bucle de retroalimentación positivo con *LFY*. Como consecuencia, una vez que la transición a la floración ha alcanzado este estado, la floración es irreversible.

La existencia de múltiples rutas de floración proporciona a las angiospermas una flexibilidad reproductiva máxima, permitiéndoles producir semillas en una gran variedad de condiciones. La redundancia de las rutas asegura que la reproducción, la más importante de todas las funciones fisiológicas, sea relativamente insensible a las mutaciones y cambios evolutivos.

Los detalles de las rutas indudablemente varían mucho entre diferentes especies. En maíz, por ejemplo, al menos uno de los genes implicados en la ruta autónoma está expresado en las hojas (véase el **tema web 24.12**). No obstante, la presencia de múltiples rutas de floración es probablemente universal en las angiospermas.

RESUMEN

La floración se produce en los meristemos apicales caulinares como un acontecimiento morfológico complejo. La planta en roseta *Arabidospsis* ha proporcionado un modelo importante para el estudio del desarrollo floral. Los cuatro órganos florales (sépalos, pétalos, estambres y carpelos) se inician en verticilos sucesivos. Existen tres clases de genes que regulan la identidad del meristemo floral. La primera clase está formada por reguladores positivos de la identidad del meristemo floral. *APETALA1*

(*AP1*) y *LEAFY* (*LFY*) son los genes de identidad del meristemo floral más importantes de *Arabidopsis*.

Los genes de identidad del meristemo floral son reguladores positivos de otra clase de genes que determinan la identidad de los órganos florales. Hay cinco genes conocidos de identidad de los órganos florales en *Arabidopsis*: *APETALA1* (*AP1*), *APETALA2* (*AP2*), *APETALA3* (*AP3*), *PISTILLATA* (*PI*) y *AGAMOUS* (*AG*). Los genes catastrales constituyen el tercer grupo. Los genes catastrales actúan como reguladores espaciales de los genes de identidad de los órganos florales al establecer los límites de su expresión.

Los genes que controlan la identidad de los órganos florales son homeóticos. La mayoría de los genes homeóticos en plantas contienen MADS box. Mutaciones en estos genes alteran la identidad de los órganos florales producidos en dos verticilos adyacentes. El modelo ABC intenta explicar cómo los genes homeóticos florales controlan la identidad de los órganos a través de una combinación de sus productos. Los genes tipo A controlan la actividad del órgano en el primer y segundo verticilo. La actividad tipo B controla la determinación del órgano en el segundo y tercer verticilo. Los verticilos tercero y cuarto están controlados por la actividad tipo C.

La capacidad para florecer (es decir, la transición desde la juventud a la madurez) se alcanza cuando la planta ha alcanzado una cierta edad o tamaño. En algunas plantas, la transición a la floración ocurre independientemente del entorno (autónomamente). Otras plantas requieren la exposición a condiciones ambientales apropiadas. Los principales controles ambientales para la floración son la duración del día y la temperatura

La respuesta a la duración del día (fotoperiodismo) promueve la floración en un momento determinado del año y existen muchas categorías de respuestas. La señal fotoperiódica es percibida por las hojas. La exposición a bajas temperaturas (vernalización) es necesaria para la floración en algunas plantas, y con frecuencia este requerimiento acoplado a la necesidad de una duración del día. La vernalización se produce en el meristemo apical del brote. El fotoperiodismo y la vernalización interactúan entre ellos.

Los ritmos diarios (ritmos circadianos) pueden localizar un acontecimiento en un momento determinado del día. La duración de estos ritmos está basada en un oscilador endógeno circadiano. El ajuste de estos ritmos en un momento concreto depende de la respuesta de la fase del ritmo a las condiciones ambientales. Las señales más importantes son el anochecer y el amanecer.

Las plantas de día corto florecen cuando se sobrepasa una duración crítica de la oscuridad. Las plantas de día largo florecen cuando la duración del período oscuro es menor que la del valor crítico. La luz aplicada en ciertos momentos de un período oscuro más largo que el valor crítico (una interrupción nocturna) impide el efecto del período oscuro. La luz también actúa sobre el oscilador circadiano para sincronizar el ritmo fotoperiódico, un efecto que es muy importante en la medida de la duración de la oscuridad. El mecanismo fotoperiódico muestra algunas variaciones en las respuestas de día corto y de día largo, pero ambos parecen implicar al fitocromo y a un oscilador circadiano.

Cuando las plantas que responden a fotoperíodo se inducen a florecer por exposición a duraciones de día adecuadas, las hojas envían una señal química al ápice que las lleva a florecer. Esta señal transmisible es capaz de provocar la floración en plantas de diferentes grupos de respuesta a fotoperíodo. A duraciones de día no inductivas, es posible que las hojas de LDPs sinteticen un inhibidor de floración transmisible.

Aunque experimentos fisiológicos, especialmente los realizados con injertos, indican la existencia de un estímulo floral transmisible y, en algunos casos, de inhibidores de la floración, la identidad química de estos factores se desconoce. Las hormonas del crecimiento vegetales, especialmente las giberelinas, pueden modificar la floración en muchas plantas.

La transición a la floración está regulada por múltiples señales y rutas. En *Arabidopsis*, la floración está controlada por cuatro rutas: la fotoperiódica, la autónoma/vernalización, la de sacarosa y la de GA. Todas estas rutas convergen para regular los genes de identidad del meristemo *AGAMOUS-LIKE 20* (*AGL20*) y *LEAFY* (*LFY*). *AGL20* y *LFY*, de hecho, regulan los genes homeóticos florales que producen los órganos florales. La existencia de múltiples rutas para la floración proporciona a las angiospermas una flexibilidad para reproducirse en una gran variedad de condiciones ambientales, aumentando así su ajuste evolutivo.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

24.1 Comparando las características de las fases juvenil y adulta de hiedra (*Hedera helix*) y maíz (*Zea mays*)

Se presenta una tabla con las características morfológicas juveniles frente a las adultas.

24.2 La regulación de la juvenilidad por los genes *TEOPOD* (*TP*) de maíz

Se analiza el control genético de la juventud en maíz.

24.3 La floración de meristemos juveniles injertados sobre plantas adultas

La competencia de los meristemos juveniles para florecer puede probarse en experimentos con injertos.

24.4 Características de la respuesta al cambio de fase en ritmos circadianos
Se han empleado los movimientos de los pétalos de *Kalanchoe* para estudiar los ritmos circadianos.

24.5 Los genes que controlan el momento de la floración
Se presenta un análisis sobre los genes que controlan los diferentes aspectos del momento de la floración.

24.6 Evidencias que apoyan la participación de la luz del azul en la regulación de los ritmos circadianos
Se analiza el papel de ELF3 en la mediación de los efectos de la luz del azul sobre el momento de la floración.

24.7 La regulación de la floración en la campanilla de Canterbury por fotoperíodo y vernalización
Los días cortos actúan como sustitutos de la vernalización del ápice caulinar en la campanilla de Canterbury.

24.8 Ejemplos de la inducción de la floración por giberelinas en plantas con diferentes requerimientos ambientales para florecer
Una tabla de los efectos de las giberelinas sobre plantas con diferentes requerimientos fotoperiódicos.

24.9 Los diferentes efectos de dos giberelinas diferentes sobre la floración (longitud de la espiga) y elongación (longitud del tallo)
GA_1 y GA_{32} tienen diferentes efectos sobre la floración en *Lolium.*

24.10 La influencia de las citoquininas y las poliaminas en la floración
Además de las giberelinas, otros reguladores del crecimiento pueden participar en la respuesta a la floración.

24.11 Los efectos contrarios de los fitocromos A y B sobre la floración
Un breve análisis de los efectos de phyA y phyB sobre la floración en *Arabidopsis* y otras especies.

24.12 Un gen que regula el estímulo floral en maíz
El gen *INDETERMINATE 1* de maíz regula la transición a la floración y se expresa en hojas jóvenes.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Bewley J. D., Hempel F. D., McCormick S. y Zambryski P. (2000) Reproductive Development. En: *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, B. B. Buchanan, W. Gruissem y R. L. Jones (eds.), American Society of Plant Biologists, Rockville, MD.

Blazquez M. A. (2000) Flower development pathways. *J. Cell Sci.* 113: 3547–3548.

Blazquez M. A. y Weigel D. (2000) Integration of floral inductive signals in *Arabidopsis*. *Nature* 404: 889–892.

Borner R., Kampmann G., Chandler J., Gleissner R., Wisman E., Apel K. y Melzer S. (2000) A *MADS* domain gene involved in the transition to flowering in *Arabidopsis*. *Plant J.* 24: 591–599.

Bowman J. L., Smyth D. R. y Meyerowitz E. M. (1989) Genes directing flower development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 1: 37–52.

Bünning E. (1960) Biological clocks. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 15: 1–9.

Clark J. R. (1983) Age-related changes in trees. *J. Arboriculture* 9: 201–205.

Coen E. S. y Carpenter R. (1993) The metamorphosis of flowers. *Plant Cell* 5: 1175–1181.

Coulter M. W. y Hamner K. C. (1964) Photoperiodic flowering response of Biloxi soybean in 72 hour cycles. *Plant Physiol.* 39: 848–856.

Crawford K. y Zambryski P. (1999) Phylem transport: Are you chaperoned? *Curr. Biol.* 9: R281–R285.

Deitzer G. (1984) Photoperiodic induction in long-day plants. En *Light and the Flowering Process,* D. Vince-Prue B. Thomas y K. E. Cockshull eds., Academic Press, New York, págs. 51–63.

Devlin P. F. y Kay S. A. (2000) Cryptochromes are required for phytochrome signaling to the circadian clock but not for rhythmicity. *Plant Cell* 12: 2499–2509.

Gasser C. S. y Robinson-Beers K. (1993) Pistil development. *Plant Cell* 5: 1231–1239.

Gisel A., Hempel F. D., Barella S. y Zambryski P. (2002) Leaf-to-shoot apex movement of symplastic tracer is restricted coincident with flowering *Arabidopsis*. *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 99: 1713–1717.

Guo H., Yang H., Mockler T. C. y Lin C. (1998) Regulation of flowering time by *Arabidopsis* photoreceptors. *Science* 279: 1360–1363.

Hamilton A. J. y Baulcombe D. C. (1999) A species of small antisense RNA in post-transcriptional gene silencing in plants. *Science* 286: 950–952.

Hendricks S. B. y Siegelman H. W. (1967) Phytochrome and photoperiodism in plants. *Comp. Biochem.* 27: 211–235.

Lang A. (1965) Physiology of flower initiation. En *Encyclopedia of Plant Physiology* (Old Series, Vol. 15), W. Ruhland ed., Springer, Berlin, págs. 1380–1535.

Lang A., Chailakhyan M. K. y Frolova I. A. (1977) Promotion and inhibition of flower formation in a dayneutral plant in grafts with a short-day plant and a long-day plant. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 2412–2416.

McDaniel C. N. (1996) Developmental physiology of floral initiation in *Nicotiana tabacum* L. *J. Exp. Bot.* 47: 465–475.

McDaniel C. N., Hartnett L. K. y Sangrey K. A. (1996) Regulation of node number in day-neutral *Nicotiana tabacum*: A factor in plant size. *Plant J.* 9: 56–61.

McDaniel C. N., Singer S. R. y Smith S. M. E. (1992) Developmental states associated with the floral transition. *Dev. Biol.* 153: 59–69.

Michaels S. D. y Amasino R. M. 2000. Memories of winter: Vernalization and the competence to flower. *Plant Cell Environ.* 23: 1145–1154.

Millar A. J., Carre I. A., Strayer C. A., Chua N.-H. y Kay S. A. (1995) Circadian clock mutants in *Arabidopsis* identified by luciferase imaging. *Science* 267: 1161–1163.

Papenfuss H. D. y Salisbury F. B. (1967) Aspects of clock resetting in flowering of *Xanthium*. *Plant Physiol.* 42: 1562–1568.

Poethig R. S. (1990) Phase change and the regulation of shoot morphogenesis in plants. *Science* 250: 923–930.

Purvis O. N. y Gregory F. G. (1952) Studies in vernalization of cereals. XII. The reversibility by high temperature of the vernalized condition in Petkus winter rye. *Ann. Bot.* 1: 569–592.

Reid J. B., Murfet I. C., Singer S. R., Weller J. L. y Taylor S.A. (1996) Physiological genetics of flowering in *Pisum*. *Sem. Cell Dev. Biol.* 7: 455–463.

Saji H., Vince-Prue D. y Furuya M. (1983) Studies on the photoreceptors for the promotion and inhibition of flowering in dark-grown seedlings of *Pharbitis nil* Choisy. *Plant Cell Physiol.* 67: 1183–1189.

Salisbury F. B. (1963) Biological timing and hormone synthesis in flowering of *Xanthium*. *Planta* 49: 518–524.

Simon R., Igeno M. I. y Coupland G. (1996) Activation of floral meristem identity genes in *Arabidopsis*. *Nature* 384: 59–62.

Vince-Prue D. (1975) *Photoperiodism in Plants.* McGraw-Hill, London.

Weigel D. y Meyerowitz E. M. (1994) The ABCs of floral homeotic genes. *Cell* 78: 203–209.

Wilson R. A., Heckman J. W. y Sommerville, C. R. (1992) Gibberellin is required for flowering in *Arabidopsis thaliana* under short days. *Plant Physiol.* 100: 403–408.

Yanovsky M. J. y Kay. S. A. (2001) Signaling networks in the plant circadian rhythm. *Curr. Opinion in Plant Biol* 4: 429–435.

Yanovsky M. J., Mazzella M. A., Whitelam G. C. y Casal J. J. (2001) Resetting the circadian clock by phytochromes and cryptochromes in *Arabidopsis*. *J. Biol. Rhythms* 16: 523–530.

Zeevaart J. A. D. (1976) Physiology of flower formation. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 27: 321–348.

Zeevaart J. A. D. (1985) *Bryophyllum. En Handbook of Flowering*, Vol. II, A. H. Halevy, ed., CRC Press Boca Raton, FL, págs. 89–100.

Zeevaart J. A. D. (1986) Perilla. En *Handbook of Flowering*, Vol. 5, A. H. Halevy, ed., CRC Press, Boca Raton, FL, págs. 239–252.

Zeevaart J. A. D. y Boyer G. L. (1987) Photoperiodic induction and the floral stimulus in *Perilla. En Manipulation of Flowering,* J. G. Atherton, ed., Butterworths, London, págs. 269–277.

Capítulo 25

FISIOLOGÍA DEL ESTRÉS

TANTO EN CULTIVO COMO EN LA NATURALEZA, las plantas están expuestas constantemente a estreses ambientales. Algunos factores ambientales, tales como la temperatura del aire, pueden ser estresantes en sólo unos pocos minutos; otros, como el contenido de agua del suelo, tardan días e incluso semanas; y algunos factores como las deficiencias minerales del suelo pueden tardar meses en ser estresantes. Se ha estimado que, debido a que las condiciones climáticas y del suelo (factores abióticos) están por debajo de los óptimos, los campos de cultivo de los Estados Unidos sólo aprovechan un 22 % de su potencial genético de producción (Boyer 1982).

Además, el estrés tiene un papel importante en la determinación del modo en que el suelo y el clima limitan la distribución de las especies vegetales. Por ello, la comprensión de los procesos fisiológicos que subyacen en el estrés por heridas, así como los mecanismos de adaptación y aclimatación de las plantas al estrés ambiental es de gran importancia tanto para la agricultura como para el medio ambiente.

El concepto de estrés se utiliza con frecuencia de manera imprecisa y la terminología del estrés es confusa, por ello analizaremos inicialmente algunas definiciones. El **estrés** se define normalmente como un factor externo que ejerce una influencia negativa sobre la planta. Este capítulo se dedica a factores ambientales o abióticos que generan el estrés en la planta, aunque los factores bióticos, como malas hierbas, patógenos e insectos depredadores también pueden generar estrés. En muchos casos, el estrés se mide con relación a la supervivencia de la planta, el rendimiento del cultivo, el crecimiento (acumulación de biomasa) o los procesos de asimilación primaria (incorporación de CO_2 y minerales) que están relacionados con el crecimiento.

El concepto de estrés está íntimamente asociado con la **tolerancia al estrés**, que es la capacidad de la planta para hacer frente a condiciones desfavorables. En la literatura, el término *resistencia al* estrés se suele utilizar como un sinónimo de *tolerancia al estrés*, aunque se prefiere este último. Hay que señalar que un entorno estresante para una planta puede no serlo para otra. Por ejemplo, el guisante (*Pisum* *sativum*) y la soja (*Glycine max*), crecen mejor a 20 °C y a 30 °C, respectivamente. Cuando la temperatura aumenta, el guisante muestra síntomas de estrés mucho antes que la soja. Así, la soja tiene una mayor tolerancia al estrés por calor.

Si la tolerancia aumenta como resultado de una exposición previa al estrés, se dice que la planta está **aclimatada.** La aclimatación se distingue de la **adaptación** porque ésta última se refiere al nivel de resistencia determinado *genéticamente*, que se ha adquirido por un proceso de selección tras numerosas generaciones. Lamentablemente, el término «*adaptación*» se usa a veces en la literatura para indicar aclimatación. Y para aumentar la complejidad, veremos más tarde que la expresión génica tiene un papel importante en la aclimatación.

La adaptación y la aclimatación a ambientes estresantes es consecuencia del conjunto de los diversos acontecimientos que se producen en los organismos a todos los niveles, desde el anatómico al morfológico, pasando por el celular, el bioquímico y el molecular. Por ejemplo, el marchitamiento de las hojas en respuesta al déficit hídrico reduce las pérdidas de agua por la hoja y su exposición a la luz incidente, lo que reduce a su vez el estrés por calor de las hojas.

Las respuestas celulares al estrés incluyen cambios en el ciclo celular y en la división celular, cambios en el sistema de endomembranas, en la formación de vacuolas y cambios en la arquitectura de la pared celular, lo que conduce a un aumento de la tolerancia al estrés de las células. A nivel bioquímico, las plantas alteran el metabolismo en varias rutas para adaptarse a los estreses ambientales, incluida la producción de compuestos osmorreguladores como prolina y glicina betaína. Los cambios moleculares que relacionan la percepción de la señal del estrés con las respuestas genómicas que conducen a la tolerancia han sido intensamente estudiados en los últimos años.

En este capítulo estudiaremos estos principios y las formas por las que las plantas se adaptan y aclimatan al déficit hídrico, a la salinidad, al frío y a la congelación, al calor y a la deficiencia de oxígeno en las raíces. La contaminación atmosférica es una fuente importante de estrés vegetal y se analizará en el **ensayo web 25.1**. Aunque es conveniente examinar cada uno de estos factores por separado, la mayoría de ellos están interrelacionados y existe un conjunto común de respuestas celulares, bioquímicas y moleculares que acompaña a los procesos individuales de aclimatación y adaptación.

Por ejemplo, el déficit hídrico se suele asociar a la salinidad en la rizosfera y al estrés por calor en las hojas (que resulta del descenso del enfriamiento por evaporación debido a la baja transpiración) y el enfriamiento y congelación conducen a la reducción de la actividad hídrica y el estrés osmótico. También veremos que a veces las plantas presentan tolerancia cruzada, es decir, tolerancia a un estrés inducida por la aclimatación a otro. Este comportamiento implica que los mecanismos de resistencia a varios estreses comparten características comunes.

TABLA 25.1
Rendimiento de cultivos de maíz y de soja en los Estados Unidos

	Rendimiento del cultivo (porcentaje medio de 10 años)		
Año	**Maíz**	**Soja**	
1979	104	106	
1980	87	88	Sequía intensa
1981	104	100	
1982	108	104	
1983	77	87	Sequía intensa
1984	101	93	
1985	112	113	
1986	113	110	
1987	114	111	
1988	80	89	Sequía intensa

Fuente: Departamento de Agricultura de los EE.UU. 1989.

liar es importante porque la fotosíntesis normalmente es proporcional a ella. No obstante, una rápida expansión de las hojas puede afectar negativamente a la disponibilidad de agua.

Si las precipitaciones sólo se producen durante el invierno y la primavera, con veranos secos, un crecimiento temprano acelerado puede inducir un aumento en el área foliar, lo que produce una rápida reducción en el contenido de agua del suelo, que queda demasiado seco para que la planta complete su ciclo vital. En esta situación, sólo producirán semillas para la siguiente generación aquellas plantas que hayan retenido parte del agua para la etapa posterior de reproducción o aquéllas que hayan completado rápidamente su ciclo antes del inicio de la sequía (escape de la sequía). Cualquiera de estas dos estrategias permitirá un éxito reproductivo.

La situación es diferente si durante el verano las lluvias son significativas, aunque esporádicas. En este caso, la planta mejor adaptada es aquella que posee una gran área foliar, o con una gran capacidad para desarrollar rápidamente un área foliar grande, ya que obtendrá ventajas en veranos ocasionalmente húmedos. Una estrategia de aclimatación en estas condiciones es la capacidad de tener crecimiento vegetativo y floración durante un gran período de tiempo. Se dice que estas plantas son *indeterminadas* en su hábitat de crecimiento, en contraste con las plantas *determinadas*, cuyo desarrollo preselecciona el número de hojas, y la floración sólo tiene lugar durante períodos de tiempo muy cortos.

En el análisis que sigue, estudiaremos varias estrategias de aclimatación, como la expansión foliar, la abscisión de la hoja, el incremento en el crecimiento radicular y el cierre estomático.

La reducción del área foliar es una respuesta inicial al déficit hídrico

Normalmente, a medida que el contenido hídrico de la planta disminuye, las células se encogen y las paredes celulares se relajan (véase el capítulo 3). Esta reducción en el volumen celular da lugar a una menor presión de turgencia y a la consiguiente concentración de los solutos en las células. La membrana plasmática se hace cada vez más gruesa y más comprimida porque cubre un área menor. Como la pérdida de turgencia es el primer efecto biofísico significativo del estrés hídrico, las actividades que dependen de la turgencia como la expansión foliar y la elongación radicular son las más sensibles a las deficiencias hídricas (Figura 25.1).

La expansión celular es un proceso inducido por la turgencia y es extremadamente sensible al déficit hídrico. La expansión celular se describe según la relación

$$GR = m\,(\Psi_p - Y) \tag{25.1}$$

donde *GR* es la tasa de crecimiento, Ψ_p es la turgencia, *Y* es el umbral de turgencia (la presión límite a la cual la pared celular resiste una deformación plástica no reversible) y m es la extensibilidad de la pared (la respuesta de la pared a la presión).

Esta ecuación muestra que un descenso de la turgencia provoca una disminución de la tasa de crecimiento. Obsérvese también que además de mostrar una ralentiza-

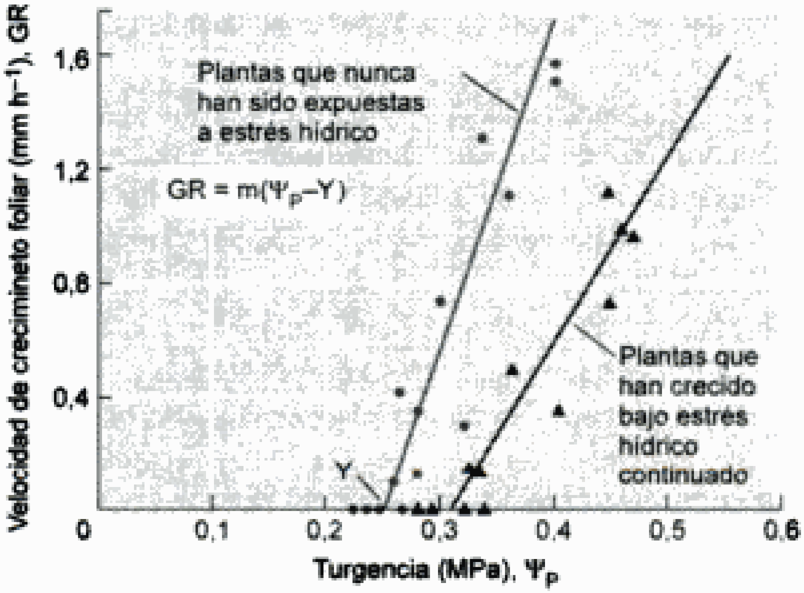


Figura 25.1 Relación entre la expansión de la hoja y la presión de turgencia. Plantas de girasol (*Helianthus annuus*) se cultivaron con agua abundante o limitando el agua del suelo para producir un ligero estrés hídrico. Después de la rehidratación, las plantas de ambos tratamientos se sometieron a estrés por retención de agua y se midió periódicamente la tasa de crecimiento de las hojas (GR) y la turgencia (Ψ_p). En ambos casos descendió la extensibilidad (m) y aumentó el umbral de turgencia para el crecimiento (Y), que limita la capacidad de la hoja para crecer tras haber estado expuesta a estrés. (Según Matthews y col. 1984.)

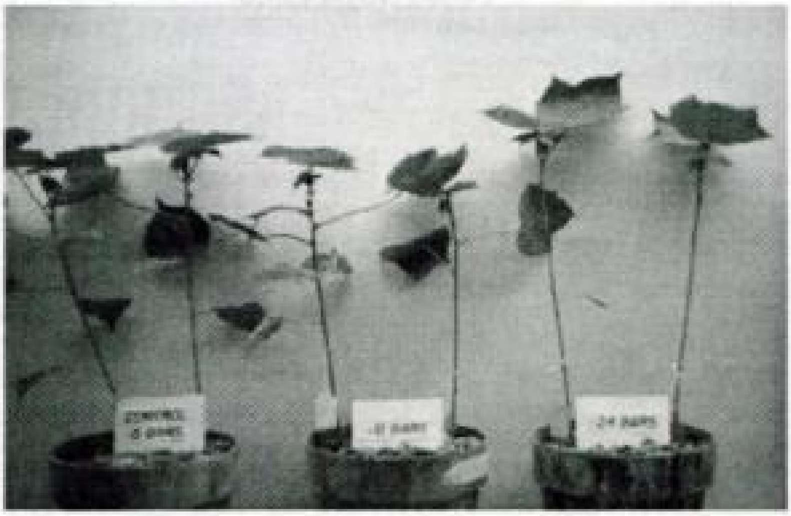


Figura 25.2 Abscisión de hojas de plantas jóvenes de algodón (*Gossypium hirsutum*) en respuesta a un estrés hídrico. Las plantas de la izquierda fueron regadas durante todo el experimento, mientras que la del medio y la de la derecha fueron sometidas a estrés moderado e intenso, respectivamente, antes de volverlas a regar. En las plantas estresadas severamente sólo quedaron unas pocas hojas en el ápice del tallo. (Gentileza de B. L. McMichael.)

tas se ven sometidas a estrés hídrico después de haber desarrollado una importante cantidad de área foliar, las hojas sufren senescencia y posiblemente abscisión (Figura 25.2). Este ajuste del área foliar es un cambio importante a largo plazo que mejora el estado de la planta en un entorno con limitación de agua. De hecho, muchas plantas de hoja caduca del desierto pierden sus hojas durante la sequía y desarrollan nuevas hojas después de las lluvias. Este ciclo puede tener lugar dos o más veces a lo largo de una misma estación. El proceso de abscisión en respuesta al estrés hídrico se debe fundamentalmente al incremento en la síntesis y en la capacidad de respuesta a la hormona vegetal endógena etileno (capítulo 22).

El déficit hídrico mejora la extensión radicular hacia suelos húmedos y más profundos

El déficit hídrico suave también afecta al desarrollo del sistema radicular. La relación de la biomasa vástago-raíz parece estar gobernada por un equilibrio funcional entre el agua incorporada por la raíz y la fotosíntesis realizada por el vástago (véase la figura 23.6). De forma sencilla, *un brote crecerá tanto como para que el factor limitante sea la cantidad de agua incorporada por las raíces*; por el contrario, *las raíces crecerán hasta que su demanda de fotoasimilados al vástago iguale el aporte*. Este equilibrio funcional cambia si se reduce el aporte de agua.

Como analizamos anteriormente, la expansión foliar se ve afectada rápidamente al reducir el aporte de agua, mientras que la actividad fotosintética se ve mucho merrestada por el movimiento de agua hacia el interior de las células guarda de las células epidérmicas adyacentes.

Un segundo mecanismo, llamado **cierre hidroactivo**, tiene lugar cuando toda la hoja o las raíces están deshidratadas y depende de procesos metabólicos en las células guarda. Una reducción del contenido en solutos de las células guarda da lugar a una pérdida de agua y de turgencia, lo que provoca el cierre estomático; así, los mecanismos hidráulicos de cierre hidroactivo son los contrarios que los de la apertura estomática. No obstante, el control hidroactivo del cierre estomático difiere poco, pero de forma importante, de la apertura estomática.

La pérdida de solutos desde las células guarda puede activarse por un descenso del contenido hídrico de la hoja, y el **ácido abscísico** (ABA) (véase el capítulo 23) desempeña un papel importante en este proceso. El ácido abscísico se sintetiza continuamente a una tasa baja en las células del mesofilo y tiende a acumularse mayoritariamente en los cloroplastos. Cuando el mesofilo está ligeramente deshidratado, ocurren dos cosas:

1. Parte del ABA almacenado en los cloroplastos se libera al apoplasto (el espacio de la pared celular) de las células del mesofilo (Hartung y col. 1998). La redistribución del ABA depende de los gradientes de pH en la hoja, de las propiedades ligeramente ácidas de la molécula de ABA y de las propiedades de permeabilidad de las membranas celulares (véase la figura 25.3).
2. El ABA se sintetiza a mayor velocidad y se acumula en el apoplasto de la hoja. Las mayores concentraciones de ABA que resultan de mayores velocidades de síntesis parecen aumentar o prolongar el efecto inicial debido al ABA almacenado. El mecanismo de cierre estomático inducido por ABA se analizó en el capítulo 23.

Las respuestas estomáticas a la deshidratación en la hoja pueden variar mucho entre especies e incluso dentro de una misma especie. Los estomas de algunas especies que retrasan la deshidratación, tales como *Vigna unguiculata* y *Manihot esculenta* (mandioca), tienen respuestas poco comunes a la reducción en la disponibilidad de agua, y la conductancia estomática y la transpiración pueden descender tanto que el potencial hídrico de la hoja (Ψ_w; véanse los capítulos 3 y 4) pueden mantenerse casi constantes durante la sequía.

Las señales químicas desde el sistema radicular pueden afectar las respuestas estomáticas al estrés hídrico (Davies y col. 2002). La conductancia estomática está más relacionada con el estado hídrico del suelo que con el de las hojas y la única parte de la planta que puede verse directamente afectada por el estado hídrico del suelo es el sistema radicular. De hecho, la deshidratación de una única zona del sistema radicular puede provocar el cierre de los estomas, incluso si todavía queda una parte del

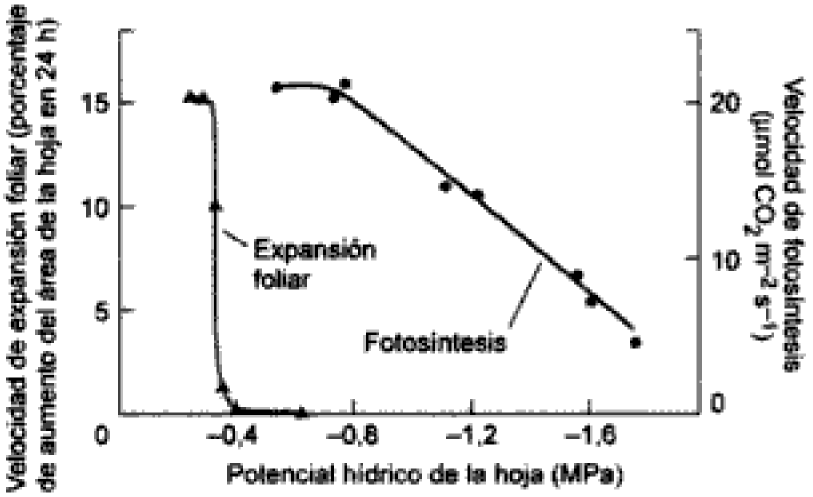


Figura 25.4 Efectos del estrés hídrico sobre la fotosíntesis y la expansión foliar en girasol (*Helianthus annuus*). Este comportamiento es típico de muchas plantas en las que la expansión foliar es mucho más sensible al estrés hídrico y está completamente inhibida a niveles de estrés que casi no afectan a la tasa fotosintética. (Según Boyer 1970.)

Sin embargo, el estrés hídrico suave afecta normalmente tanto a la actividad fotosintética de la hoja como a la conductancia estomática. A medida que se produce el cierre estomático en los estadios tempranos del estrés hídrico, el uso eficiente del agua (véanse los capítulos 4 y 9) puede aumentar (es decir, se incorpora más CO_2 por unidad de agua transpirada) debido a que el cierre estomático inhibe la transpiración más de lo que disminuye las concentraciones intercelulares de CO_2.

Sin embargo, cuando el estrés se hace grave, la deshidratación de las células del mesofilo inhibe la fotosíntesis, se desajusta el metabolismo del mesofilo y el uso eficiente del agua normalmente desciende. Los resultados de muchos estudios han demostrado que el efecto relativo del estrés sobre la conductancia estomática es significativamente mayor que sobre la fotosíntesis. La respuesta de la fotosíntesis y de la conductancia estomática al estrés hídrico puede ser repartida al poner en contacto hojas estresadas con aire que tiene elevadas concentraciones de CO_2. Cualquier efecto del estrés sobre la conductancia estomática se elimina con un alto aporte de CO_2 y las diferencias entre las intensidades fotosintéticas de plantas estresadas y no estresadas pueden atribuirse directamente al daño del estrés hídrico sobre la fotosíntesis.

¿Afecta directamente el estrés al transporte? El estrés hídrico reduce tanto la fotosíntesis como el consumo de los fotoasimilados en las hojas en expansión. Como consecuencia, el estrés hídrico reduce indirectamente la cantidad de fotoasimilados que se exportan desde las hojas. Como el transporte en el floema depende de la turgencia (véase el capítulo 10), el descenso del potencial hídrico en el floema durante el estrés puede inhibir el movimiento de los fotoasimilados. Sin embargo, los experimentos han demostrado que el transporte no se ve afectado hasta el final del periodida de agua. El descenso de Ψ_s suele estar entre 0,2 y 0,8 MPa, excepto en plantas adaptadas a condiciones extremas de sequía. La mayor parte del ajuste generalmente se debe al aumento en la concentración de una serie de solutos comunes, incluidos azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos e iones (especialmente K^+).

Los enzimas citosólicos de las células vegetales pueden verse seriamente inhibidos por altas concentraciones de iones. La acumulación de iones durante el ajuste osmótico parece tener lugar principalmente en las vacuolas, donde los iones se mantienen fuera del contacto de los enzimas del citosol u orgánulos celulares. Debido a esta compartimentalización de los iones, se deben acumular otros solutos en el citoplasma para mantener en equilibrio el potencial hídrico intracelular.

Estos otros solutos, llamados **solutos compatibles** (u osmolitos compatibles), son compuestos orgánicos que no interfieren con las funciones enzimáticas. Entre los solutos compatibles que se suelen acumular se incluye el aminoácido prolina, azúcares alcohólicos (como, por ejemplo, el sorbitol y el manitol) y una amina cuaternaria, llamada glicina betaína. La síntesis de solutos compatibles ayuda al ajuste de las plantas al incrementar la salinidad en la zona radicular, como analizaremos más adelante en este capítulo.

El ajuste osmótico se produce lentamente en respuesta a la deshidratación tisular. Con el paso de los días se producen otros cambios (como crecimiento o fotosíntesis). Por esta razón, no está claro si el ajuste osmótico es una respuesta independiente y directa al déficit hídrico o el resultado de otros factores como la disminución de la tasa de crecimiento. No obstante, está claro que las hojas que son capaces de realizar el ajuste osmótico pueden mantener la turgencia a potenciales hídricos más bajos que las que no realizan dicho ajuste. El mantenimiento de la turgencia permite la continuación de la elongación celular y facilita conductancias estomáticas más altas a potenciales hídricos menores. Esto sugiere que el ajuste osmótico es una aclimatación que mejora la tolerancia a la desecación.

¿Qué cantidad de agua extra puede incorporar una planta debido al ajuste osmótico en las células foliares? La mayor parte del agua extraíble del suelo se mantiene en espacios (llenos de agua y aire) desde donde es captada rápidamente por las raíces (véase el capítulo 4). A medida que el suelo se seca, este agua es la que primero se utiliza, y la que queda es una pequeña cantidad de agua fuertemente unida a los poros pequeños.

El ajuste osmótico permite a la planta extraer más de este agua fuertemente retenida, pero aún así el aumento de agua disponible es pequeño. Por tanto, el coste del ajuste osmótico en la hoja se compensa con una rápida disminución en la disponibilidad de agua para la planta, como puede verse comparando las relaciones hídricas de las especies en función de su capacidad de ajuste osmótico (Figura 25.6). Estos resultados muestran que el ajuste osmótico promueve la tolerancia a la deshidratación, pero no tiene un efecto importante en la productividad (McCree y Richardson, 1987).

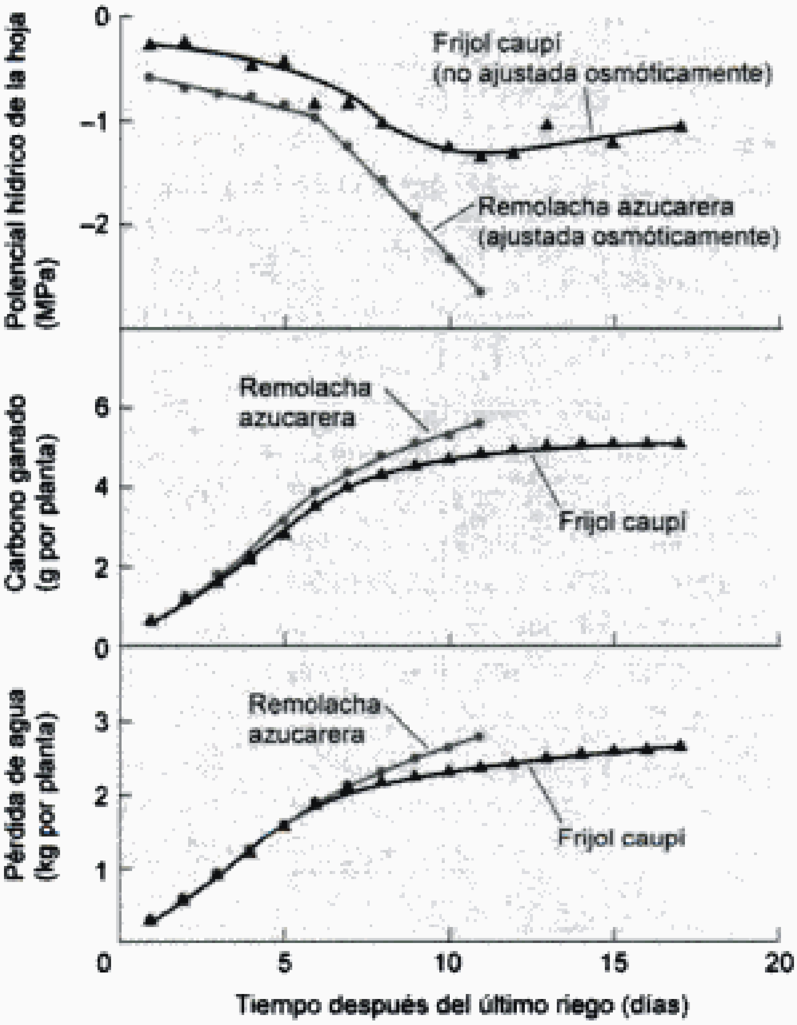


Figura 25.6 Pérdida de agua y ganancia de carbono por la remolacha azucarera (*Beta vulgaris*), una especie con capacidad de ajuste osmótico, y *Vigna unguiculata*, una especie sin capacidad de ajuste osmótico que conserva el agua durante el estrés por cierre estomático. Las plantas se cultivaron en macetas y fueron sometidas a estrés hídrico. Después del último riego, las plantas de remolacha azucarera siempre tenían un potencial hídrico menor que las hojas de *Vigna*; sin embargo, la fotosíntesis y la transpiración durante el estrés sólo fueron ligeramente mayores en la remolacha azucarera. La principal diferencia entre las dos plantas fue el potencial hídrico de las hojas. Estos resultados demuestran que el ajuste osmótico promueve la tolerancia a la deshidratación, pero sin tener un efecto importante sobre la productividad. (Según McCree y Richardson 1987.)

El ajuste osmótico también tiene lugar en las raíces, aunque el proceso no ha sido tan extensamente estudiado como en las hojas. La magnitud absoluta del ajuste es menor en las raíces que en las hojas, pero como porcentaje del potencial tisular inicial de solutos, puede ser mayor en las raíces que en las hojas. Como en las hojas, estos cambios sólo aumentan ligeramente la extracción de agua del suelo previamente examinado. Sin embargo, el ajuste osmótico puede tener lugar en los meristemos radiculares, aumentando la turgencia y manteniendo el crecimiento radicular. Es un componente importante de los cambios en los patrones de crecimiento radicular a medida que el agua se agota en el suelo.

¿La productividad vegetal aumenta por ajuste osmótico? Los investigadores han manipulado la acumulación de solutos osmoprotectores mediante mejora genética convencional, por métodos fisiológicos (induciendo el ajuste con déficit de agua controlado) y usando plantas transgénicas que expresan los genes de la síntesis y acumulación de los solutos. Sin embargo, las plantas manipuladas crecen más lentamente y son sólo ligeramente más tolerantes al estrés osmótico. Por tanto, el uso del ajuste osmótico para mejorar el rendimiento agrícola aún tiene que perfeccionarse.

La deficiencia hídrica aumenta la resistencia al flujo de agua en fase líquida

Cuando un suelo se seca, su resistencia al paso de agua aumenta muy bruscamente, particularmente cerca del *punto de marchitez permanente*. Recordemos del capítulo 4 que en el punto de marchitez permanente (normalmente de unos –1,5 MPa), las plantas no pueden recuperar la presión de turgencia incluso si se detiene toda la transpiración (para más detalles sobre la relación entre la conductividad hidráulica del suelo y el potencial hídrico del suelo, véase la **figura 4.2A** en el **tema web 4.2**). Debido a la gran resistencia del suelo al flujo de agua, el agua enviada hacia las raíces en el punto de marchitez permanente es demasiado lenta como para permitir durante la noche la rehidratación de lo que se ha marchitado durante el día.

La rehidratación tiene que superar posteriormente la resistencia en las plantas, que es mucho mayor que la resistencia en el suelo para un amplio rango de déficit hídricos (Blizzard y Boyer 1980). Hay algunos factores que pueden contribuir a aumentar la resistencia de las plantas al flujo de agua durante la sequía. A medida que las células vegetales pierden agua, se encogen. Cuando las raíces se encogen, las superficies radiculares pueden alejarse de las partículas del suelo próximas que retienen el agua y los delicados pelos radiculares pueden resultar dañados. Además, como se reduce la extensión radicular al secarse el suelo, la capa más superficial de la corteza (la hipodermis) con frecuencia queda cubierta más extensamente por suberina, un lípido impermeable (véase la figura 4.4), que aumenta la resistencia al flujo del agua.

Otro factor importante que aumenta la resistencia al flujo del agua es la *cavitación*, o ruptura de las columnas de agua bajo tensión. Como vimos en el capítulo 4, la transpiración desde las hojas «tira» del agua a través de la planta al crear una tensión en la columna de agua. Son necesarias fuerzas cohesivas para soportar las grandes tensiones que existen en las estrechas columnas en las cuales el agua se adhiere a las paredes.

La cavitación se inicia en la mayoría de las plantas a potenciales hídricos moderados (–1 a –2 MPa), primero en los vasos más grandes. Por ejemplo, en los árboles con anillos porosos como el roble (*Quercus*), durante la primavera, cuando hay abundante agua disponible, se desarrollan vasos de gran diámetro en una ruta de baja resistencia. A medida que el suelo se seca durante el verano, estos vasos dejan de funcionar, quedando los vasos de pequeño diámetro, producidos durante el período de estrés, para conducir la corriente de transpiración. Este cambio tiene consecuencias posteriores: incluso si la planta se rehidrata, la ruta original de baja resistencia permanece no funcional, reduciendo la eficiencia del flujo del agua.

El déficit hídrico aumenta la deposición de cera en la superficie de las hojas

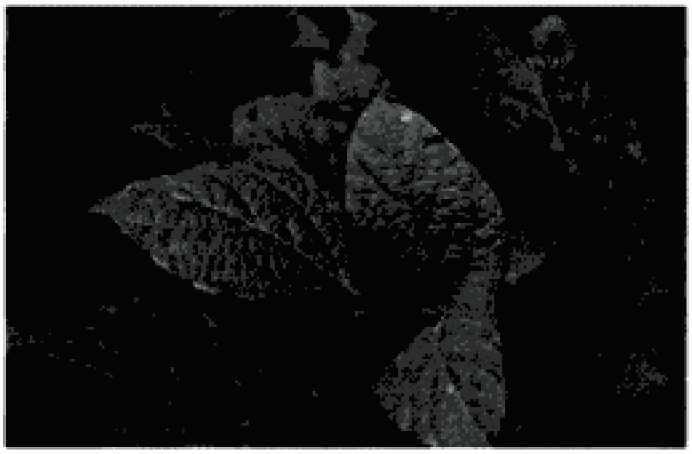
Una respuesta común del desarrollo durante el estrés hídrico es la producción de una cutícula más gruesa que reduzca las pérdidas de agua de la epidermis (transpiración cuticular). Aunque en respuesta a un déficit hídrico las ceras se depositan tanto en la superficie como en la capa de cutícula más interna, la capa más interna puede ser más importante en el control de la pérdida de agua de forma más compleja que el simple aumento de la cantidad de cera presente (Jenks y col. en prensa).

Una cutícula más gruesa disminuye la permeabilidad al CO_2, pero sin afectar a la fotosíntesis de la hoja debido a que las células epidérmicas que se encuentran por debajo de la cutícula son no fotosintéticas. No obstante, la transpiración cuticular es sólo del 5 al 10 % de la transpiración total de la hoja, por lo que llega a ser significativa sólo si el estrés es extremadamente grave o si se ha dañado la cutícula (por ejemplo, por tormentas de arena).

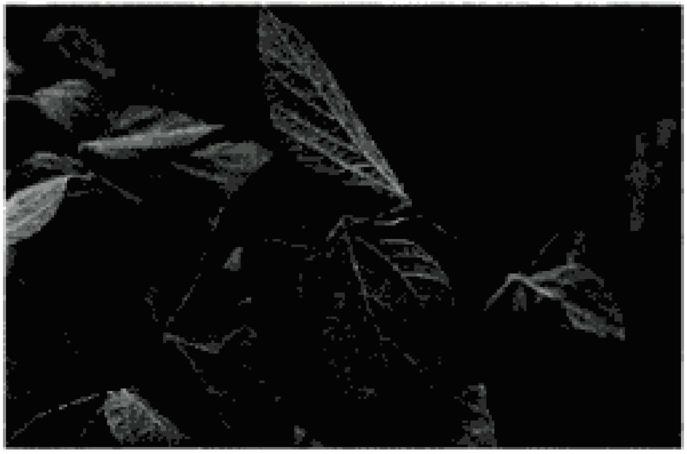
La deficiencia hídrica altera la disipación de la energía de las hojas

Recordemos del capítulo 9 que el enfriamiento por evaporación reduce la temperatura de la hoja. Este efecto del enfriamiento puede ser muy importante: en el Valle de la Muerte de California (uno de los lugares más calientes del mundo) se midió la temperatura de las hojas y se observó que la de las plantas con accesibilidad al agua era 8°C menor que la temperatura del aire. En climas calurosos y secos, un agricultor experimentado puede decidir si las plantas necesitan agua tocando simplemente las hojas, debido a que una hoja con una rápida transpiración está claramente más fría al tacto. Cuando el estrés hídrico limita la transpiración, la temperatura de las hojas aumenta a no ser que haya otros procesos que contrarresten esta falta de enfriamiento. Debido a estas interacciones, el estrés hídrico y el estrés por calor

(A) Bien regada



(B) Estrés hídrico ligero



(C) Estrés hídrico fuerte

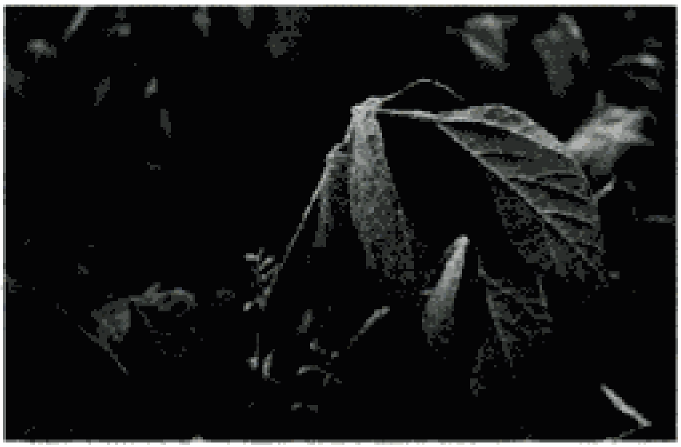


Figura 25.7 Orientación de los foliolos de plantas de soja (*Glycine max*) cultivadas en el campo en posición normal no estresada (A); sometidas a estrés hídrico moderado (B); y sometidas a estrés hídrico intenso (C). Los grandes movimientos de la hoja inducidos por estrés moderado son muy diferentes del marchitamiento que se produce con el estrés fuerte. Obsérvese que con estrés moderado el foliolo terminal está erguido, mientras que los dos foliolos laterales están caídos; prácticamente verticales. (Gentileza de D. M. Oosterhuis.)

están íntimamente relacionados (véase el análisis del estrés por calor más adelante en este capítulo).

Para mantener una temperatura en la hoja mucho más baja que la del aire es necesaria la evaporación de grandes cantidades de agua. Por eso, las adaptaciones que enfrían las hojas por mecanismos diferentes a la evaporación (por ejemplo, cambios en el tamaño y orientación de la hoja) son muy efectivas conservando el agua. Cuando la transpiración se reduce y la temperatura de la hoja aumenta, parte de la energía extra de la hoja se disipa como pérdidas de calor (véase el capítulo 9). Muchas plantas de zonas áridas tienen hojas muy pequeñas, lo que minimiza la resistencia de la capa estacionaria para transferir calor desde la hoja al aire (véase la figura 9.14).

Debido a la baja resistencia de su capa estacionaria, la temperatura de las hojas pequeñas tiende a mantenerse cercana a la temperatura del aire, incluso cuando la transpiración está muy ralentizada. Por el contrario, las hojas grandes tienen las capas estacionarias muy finas y disipan menos energía térmica (por unidad de área foliar) por transferencia directa de calor al aire.

En las hojas grandes, el movimiento de la hoja puede proporcionar una protección adicional contra el aumento de la temperatura durante el estrés hídrico. Las hojas que se orientan a sí mismas lejos del sol se denominan *paraheliotrópicas*; mientras que aquellas que ganan energía orientando sus hojas normalmente (perpendicularmente) al sol son *diaheliotrópicas* (véase el capítulo 9). La figura 25.7 muestra el gran efecto del estrés hídrico en la posición de las hojas de soja. Otros factores que pueden alterar la captación de la radiación son el marchitamiento, que cambia el ángulo de la hoja, y el seguimiento del sol en las herbáceas, que minimiza la superficie de los tejidos expuestos al sol.

La absorción de energía puede reducirse también por la presencia de pelos en la superficie de la hoja o por capas de cera sobre la cutícula. Las hojas de algunas plantas tienen una apariencia gris-blanquecina por la presencia de una gran cantidad de pelos comprimidos que les permite reflejar una gran cantidad de luz. Esta vellosidad, o **pubescencia**, mantiene las hojas más frías al reflejar la radiación, pero también refleja las longitudes de onda visible que activan la fotosíntesis, lo que reduce la asimilación del carbono. Debido a este problema, los intentos para variar la pubescencia en los cultivos y mejorar el uso eficiente del agua han sido, generalmente, infructuosos.

El estrés osmótico induce el metabolismo ácido de crasuláceas en algunas plantas

El metabolismo ácido de las Crasuláceas (CAM) es una adaptación en la que los estomas se abren de noche y se cierran durante el día (véanse los capítulos 8 y 9).

TABLA 25.2
Los cinco grupos de las proteínas LEA (abundantes durante la embriogénesis tardía) encontradas en plantas

Grupo (nombre de la familia)[a]	Proteína(s) en el grupo	Características estructurales y motivos	Información funcional/ Función propuesta
Grupo 1 (Familia D-19)	Algodón D-19 Maíz Em (proteína temprana de metionina marcada) Girasol Ha ds 10 Cebada B19	La conformación predominante es al azar con algunas hélices α predichas cortas. Son abundantes los aminoácidos cargados y la glicina.	Contiene más agua de hidratación que las proteínas globulares típicas. La sobreexpresión de esta proteína proporciona una mayor tolerancia al déficit hídrico en células de levadura.
Grupo 2 (Familia D-11 también conocida como deshidratinas)	Maíz DHN1, M3, RAB17 Algodón D-11 *Arabidopsis* pRABAT1, ERD10, ERD14 *Craterostigma* pcC 27-04, pcC 6-19 Tomate pLE4, TAS14 Cebada B8, B9, B17 Arroz pRAB16A Zanahoria pcEP40	Estructura variable que incluye hélices α formando regiones ricas en lisina. La secuencia consenso del grupo de las deshidratinas es EKKGIMDKIKELPG. El número de veces que este consenso se repite varía con las proteínas. Con frecuencia contienen una región de poli(serina). Con frecuencia contiene regiones de longitud variable ricas en residuos polares y bien Gly o Ala y Pro.	Con frecuencia localizadas en el citoplasma o núcleo Los miembros más ácidos de la familia están asociados con la membrana plasmática. Pueden actuar estabilizando macromoléculas a bajos potenciales hídricos.
Grupo 3 (Familia D-7)	Cebada HVA 1 (inducida por ABA) Algodón D-7 Trigo pMA2005, pMa 1949 *Craterostigma* pcC 3-06	La secuencia consenso de 11 aminoácidos TAQAAKEKAXE se repite en la proteína. Contiene hélices α aparentemente anfipáticas. Proteína dimérica.	Las plantas transgéncias que expresan HVA1 mostraron una mayor tolerancia al estrés. D-7 es una proteína abundante en los embriones de algodón (en una concentración estimada de 0,25 mM). Cada dímero de D-7 se une al menos a 10 fosfatos inorgánicos y a sus contraiones.
Grupo 4 (Familia D-95)	Soja D-95 *Craterostigma* pcC27-45	Ligeramente hidrofóbico. La región N-terminal se predice que forma hélices α anfipáticas.	En tomate, un gen que codifica una proteína similar se expresa en respuesta a su ingestión por nemátodos

TABLA 25.2 (*continiación*)
Los cinco grupos de las proteínas LEA (abundantes durante la embriogénesis tardía) encontradas en plantas

Grupo (nombre de la familia)[a]	Proteína(s) en el grupo	Características estructurales y motivos	Información funcional/ Función propuesta
Grupo 5 (Familia D-113)	Tomate LE25 Girasol Hads11 Algodón D-113	Los miembros de esta familia comparten homología de secuencia en el extremo N- terminal conservado. La región N-terminal se predice que forma hélices α anfipáticas El dominio C-terminal se predice que es un ovillo al azar de longitud y secuencia variables Ala, Gly y Thr son abundantes en la secuencia.	Se une a membranas y/o proteínas para mantener la estructura durante. el estrés Posiblemente funciona en el secuestro de iones para proteger el metabolismo citosólico. Cuando LE25 se expresa en levadura, le confiere tolerancia a la sal y al frío. D-113 es abundante en las semillas de algodón (hasta 0,3 mM)

[a] Los nombres de las familias de proteínas proceden de las proteínas de las semillas de algodón más similares a la familia.
Fuente: Según Bray y col. 2000

trolados por el estrés constituyen un 10 % del total de los genes de arroz examinados (Kawasaki y col. 2001).

El estrés osmótico suele conducir a la acumulación de ABA (véase el capítulo 23), de ahí que no sea sorprendente que los productos de los genes que responden al ABA se acumulen durante los estreses osmóticos. Los estudios con mutantes insensibles a ABA y deficientes en ABA han mostrado que numerosos genes inducidos por estrés osmótico son, de hecho, inducidos por el ABA acumulado durante los episodios de estrés. No obstante, no todos los genes activados por estrés osmótico están regulados por ABA. Como analizaremos en la siguiente sección, se han descubierto otros mecanismos para la regulación de la expresión de los genes regulados por estrés osmótico.

Los genes que responden al estrés están regulados por procesos dependientes e independientes de ABA

La transcripción génica está controlada por la interacción de proteínas reguladoras (factores de transcripción) con secuencias reguladoras específicas en los promotores de los genes que regulan (véase el capítulo 14 en la página web para un análisis detallado de estos procesos). Genes diferentes que están inducidos por la misma se-

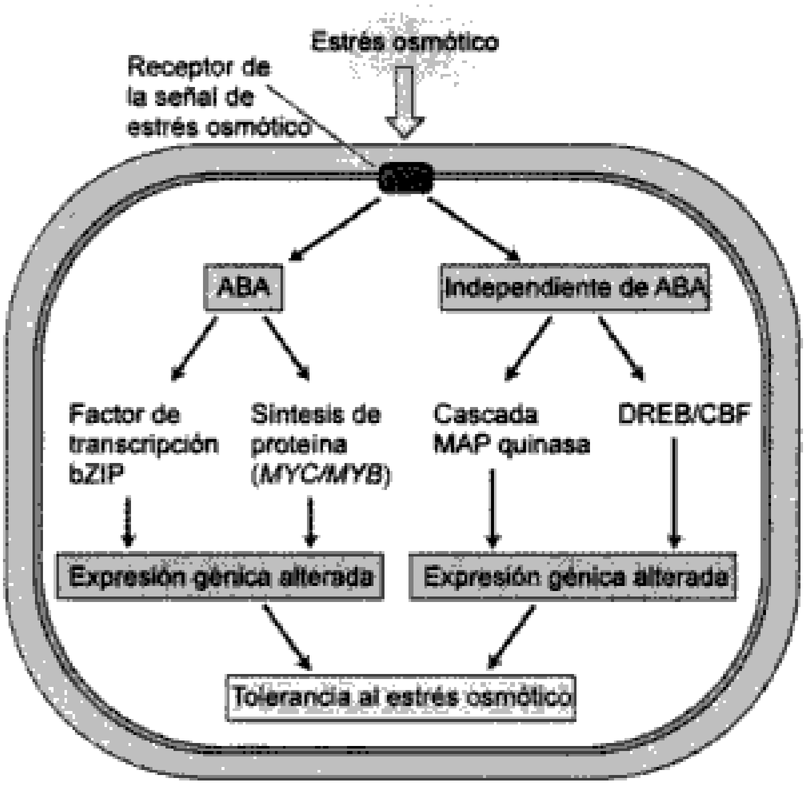

Estrés osmótico
Receptor de la señal de estrés osmótico
ABA
Independiente de ABA
Factor de transcripción bZIP
Síntesis de proteína (*MYC/MYB*)
Cascada MAP quinasa
DREB/CBF
Expresión génica alterada
Expresión génica alterada
Tolerancia al estrés osmótico

Figura 25.9 Ruta de transducción de señal del estrés osmótico en células vegetales. El estrés osmótico es detectado por un receptor, todavía desconocido, en la membrana plasmática que activa unas rutas de transducción de señal independientes y dependientes de ABA. La síntesis de proteína participa en una de las rutas dependientes de ABA que implica MYC/MYB. La ruta bZIP dependiente de ABA implica el reconocimiento de los elementos de respuesta a ABA en promotores génicos. Se ha demostrado la existencia de dos rutas independientes de ABA, una que implica la cascada de señalización de las MAP quinasas y la otra que implica los factores de transcripción relacionados con DREBP/CBF. (Según Shinozaki y Yamaguchi-Shinozaki 2000).

ñal (desecación o salinidad, por ejemplo) están controlados por una ruta de señalización que conduce a la activación de estos factores de transcripción específicos.

Los estudios de los promotores de varios genes inducidos por estrés han conducido a la identificación de secuencias reguladoras específicas implicadas en los diferentes estreses. Por ejemplo, el gen *RD29* contiene secuencias de DNA que pueden ser activadas por estrés osmótico y por ABA (Yamaguchi-Shinozaki y Shinozaki 1994; Stockinger y col. 1997).

Los promotores de los genes regulados por ABA contienen una secuencia de seis nucleótidos conocida como **elemento de respuesta a ABA (ABRE)**, que probablemente se une a los factores transcripcionales implicados en la activación de los genes regulados por ABA (véase el capítulo 23). Los promotores de estos genes, que están regulados por estrés osmótico de modo dependiente de ABA, contienen un elemento alternativo formado por una secuencia reguladora de nueve nucleótidos, el **elemento de respuesta a la deshidratación (DRE)** que es reconocido por un conjunto alternativo de proteínas de regulación de la transcripción. Así, los genes que están regulados por estreses osmóticos parecen estar regulados bien por rutas de transducción de señal mediadas por la acción de ABA (**genes dependientes de ABA**), bien por una ruta de transducción de señal que responde al estrés osmótico y que es **independiente de ABA**.

Se han implicado al menos dos rutas independientes de ABA en la regulación de la expresión génica (Figura 25.9). La acción posterior de los *factores de transcripción* (llamados DREB1 y DREB2) que se unen a los elementos DRE en los promotores de los genes que responden al estrés osmótico, aparentemente, son activados por una cascada de señalización independiente de ABA. Otros genes que responden al estrés osmótico de forma independiente al ABA parecen estar directamente controlados por la cascada de señalización de las MAP quinasas (analizada con detalle en el capítulo 14 de la página web). Otros cambios en la expresión génica parecen estar mediados por otros mecanismos que no implican DREB.

Esta complejidad y los «cross talks» (comunicación entre cascadas) encontrados en la cascada de señalización, ejemplificados aquí por las rutas dependiente e independiente de ABA, es típica de la señalización en eucariotas. Dicha complejidad refleja la riqueza de la interacción entre la expresión génica y los procesos fisiológicos que median en la adaptación al estrés.

ESTRÉS POR CALOR Y CHOQUE TÉRMICO

La mayoría de los tejidos de plantas superiores son incapaces de sobrevivir a exposiciones prolongadas a temperaturas superiores a los 45 °C. Las células que no están creciendo o los tejidos deshidratados (como las semillas y el polen) pueden sobrevivir a temperaturas mucho más altas que las células vegetativas en crecimiento (Tabla 25.3). Los tejidos que se encuentran en la fase de crecimiento activo raramente pueden sobrevivir a temperaturas de unos 45 °C, pero las semillas secas pueden aguantar hasta los 120 °C y los granos de polen hasta 70 °C. En general, a temperaturas superiores a 50 °C sólo pueden completar su ciclo vital los organismos eucariotas unicelulares y sólo los procariotas pueden dividirse y crecer a más de 60 °C.

Un breve período de exposición a estreses por calor subletal con frecuencia induce tolerancia a otras temperaturas letales, un fenómeno conocido como la **termotolerancia inducida**. Los mecanismos que median la termotolerancia inducida serán analizados posteriormente en este capítulo. Como explicamos antes, el agua y el estrés por altas temperaturas están interrelacionados; los brotes de la mayoría de las plantas C_3 y C_4 con un buen aporte de agua se mantienen a temperaturas inferiores a 45 °C por el enfriamiento por evaporación. Si el aporte de agua se hace limitante, el enfriamiento por evaporación disminuye y la temperatura del tejido aumenta. Las

TABLA 25.3
Temperaturas que causan la muerte de las plantas por calor

Planta	Temperatura letal (°C)	Tiempo de exposición
Nicotiana rustica (tabaco silvestre)	49-51	10 min
Cucurbita pepo (calabacín)	49-51	10 min
Zea mays (maíz)	49-51	10 min
Brassica napus (colza)	49-51	10 min
Citrus aurantium (naranjo amargo)	50,5	15-30 min
Opuntia (cactus)	>65	–
Sempervivum arachnoideum (carnosa)	57-61	–
Hojas de patata	42,5	1 hora
Plántulas de pino y abeto	54-55	5 min
Semillas de *Medicago* (alfalfa)	120	30 min
Uva (fruta madura)	63	–
Fruto de tomate	45	–
Polen rojo de pino	70	1 hora
Varios musgos		
Hidratados	42-51	–
Deshidratados	85-110	–

Fuente: Tomado de la tabla 11.2 de Levitt 1980.

plántulas que emergen en suelos húmedos constituyen una excepción a esta regla. Estas plántulas pueden ser expuestas a temperaturas superiores a las que generan el estrés por calor respecto de aquéllas que se encuentran en suelos más secos, debido a que el suelo mojado suele ser más oscuro y absorbe mayor radiación solar que un suelo más seco.

Una temperatura elevada en la hoja y el estrés hídrico conducen al estrés por calor

Muchas CAM, plantas crasas superiores, como *Opuntyia* y *Sempervivium*, están adaptadas a altas temperaturas y pueden tolerar temperaturas tisulares de 60-65 °C en condiciones de intensa radiación solar en verano (véase la tabla 25.3). Como las plantas CAM mantienen sus estomas cerrados durante el día, no pueden enfriarse por transpiración. En lugar de eso, disipan el calor de la radiación solar incidente por reemisión de la radiación de longitud de onda larga (infrarroja) y pierden calor por conducción y convección (véase el capítulo 9).

Por otro lado, en plantas C_3 y C_4 no regadas, la reducción de la temperatura se produce generalmente por transpiración. En estas plantas la temperatura de la hoja puede aumentar en 4-5 °C sobre la temperatura ambiental a la luz del sol sobre mediodía, cuando el déficit hídrico del suelo causa el cierre parcial de los estomas o cuando la humedad relativa alta reduce el potencial para enfriamiento por evaporación. Las consecuencias fisiológicas de estos aumentos en la temperatura tisular se analizarán en la siguiente sección.

Los aumentos en la temperatura de la hoja durante el día pueden ser mucho más pronunciados en plantas de regiones áridas y semiáridas durante la sequía y expuestas a las altas radiaciones solares. El estrés por calor es también un peligro potencial en los invernaderos, donde la velocidad del aire es baja y la alta humedad reduce la velocidad de enfriamiento de la hoja. Un grado moderado de estrés térmico reduce el crecimiento de toda la planta. Algunos cultivos bien regados, como el algodón, emplean el enfriamiento por transpiración para disipar el calor. En algodón bien regado, el enfriamiento por transpiración está asociado con rendimientos agronómicos superiores (véase el **tema web 25.1**).

A elevadas temperaturas, la fotosíntesis se inhibe antes que la respiración

Tanto la fotosíntesis como la respiración se inhiben a altas temperaturas pero, a medida que la temperatura aumenta, las tasas fotosintéticas disminuyen más rápidamente que las tasas respiratorias (Figura 25.10A y B). La temperatura a la cual la cantidad de CO_2 fijada por la fotosíntesis iguala a la cantidad de CO_2 liberada por la respiración en un período de tiempo dado se denomina **punto de compensación térmica** o **punto de compensación de la temperatura**.

A temperaturas superiores a la del punto de compensación de la temperatura, la fotosíntesis no puede reemplazar al carbono usado como sustrato de la respiración. Como resultado, las reservas de carbohidratos se reducen, y las frutas y las verduras pierden el sabor dulce. Este desequilibrio entre fotosíntesis y respiración es una de las principales causas de los efectos perjudiciales de las altas temperaturas.

En una misma planta, el punto de compensación térmico es normalmente más bajo en las hojas de sombra que en las de sol, que están expuestas a la luz (y al calor). A altas temperaturas, el incremento de la intensidad respiratoria con respecto a la fotosíntesis es más perjudicial en las plantas C_3 que en las plantas C_4 o las CAM, porque en las plantas C_3, a altas temperaturas, aumenta tanto la intensidad de la respiración en oscuridad como la de la fotorrespiración (véase el capítulo 8).

Las plantas adaptadas a temperaturas frías se aclimatan peor a las altas temperaturas

Comparando las respuestas de dos especies C_4, *Atriplex sabulosa* (un miembro de las chenopodiáceas) y *Tidestromia oblongifolia* (de la familia de las amarantáceas), se ilustra el grado de aclimatación de las plantas que están genéticamente adaptadas a un rango diferente de temperaturas.

A. sabulosa es nativa del clima frío de la costa norte de California y *T. oblongifolia* es nativa del clima cálido del Valle de la Muerte de California, donde crece en un rango de temperaturas que es letal para la mayoría de las especies. Cuando estas especies se cultivaron en condiciones ambientales controladas y se determinaron las tasas de crecimiento en función de la temperatura, *T. oblongifolia* apenas crecía a 16 ºC, mientras que *A. sabulosa* alcanzaba un 75 % de su tasa de crecimiento máxima. Por el contrario, la tasa de crecimiento de *A. sabulosa* disminuyó entre 25 y 30 ºC y el crecimiento cesó a 45 ºC, temperatura a la cual el crecimiento de *T. oblongifolia* mostraba un máximo (Björkman y col. 1980). Claramente, ninguna de las dos especies podría aclimatarse al rango extremo de la otra.

Las altas temperaturas reducen la estabilidad de la membrana

La estabilidad de las membranas celulares es importante durante el estrés por altas temperaturas, como ocurre durante el enfriamiento y la congelación. La excesiva fluidez de los lípidos de la membrana a altas temperaturas está relacionada con la pérdida de su función fisiológica. En las plantas de adelfa (*Nerium oleander*), la aclimatación a altas temperaturas está asociada a un alto grado de ácidos grasos saturados en los lípidos de membrana, lo que tiende a hacer las membranas menos fluidas (Raison y col. 1982).

A altas temperaturas disminuye la fuerza de los puentes de hidrógeno y de las interacciones electrostáticas entre los grupos polares de las proteínas en la fase acuosa de la membrana. Así, las altas temperaturas modifican la estructura y composición de la membrana y provocan la pérdida de iones (Figura 25.10C). La alteración de la membrana también provoca la inhibición de procesos tales como la fotosíntesis y la respiración, que dependen de la actividad de enzimas y proteínas transportadoras de electrones asociadas a la membrana.

La fotosíntesis es especialmente sensible a las temperaturas altas (véase el capítulo 9). En su estudio de *Atriplex* y *Tidestromia*, O. Björkman y sus colaboradores (1980) encontraron que el transporte de electrones en el fotosistema II era más sensible a las altas temperaturas en *A. sabulosa*, que está adaptada al frío, que en *T. oblongifolia*, que está adaptada al calor. En estas plantas, los enzimas ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa, NADP:gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa y fosfoenolpiruvato carboxilasa eran menos estables a altas temperaturas en *A. sabulosa* que en *T. oblongifolia*.

Sin embargo, las temperaturas a las cuales estos enzimas empezaban a desnaturalizarse y perdían actividad eran claramente superiores a las temperaturas a las que

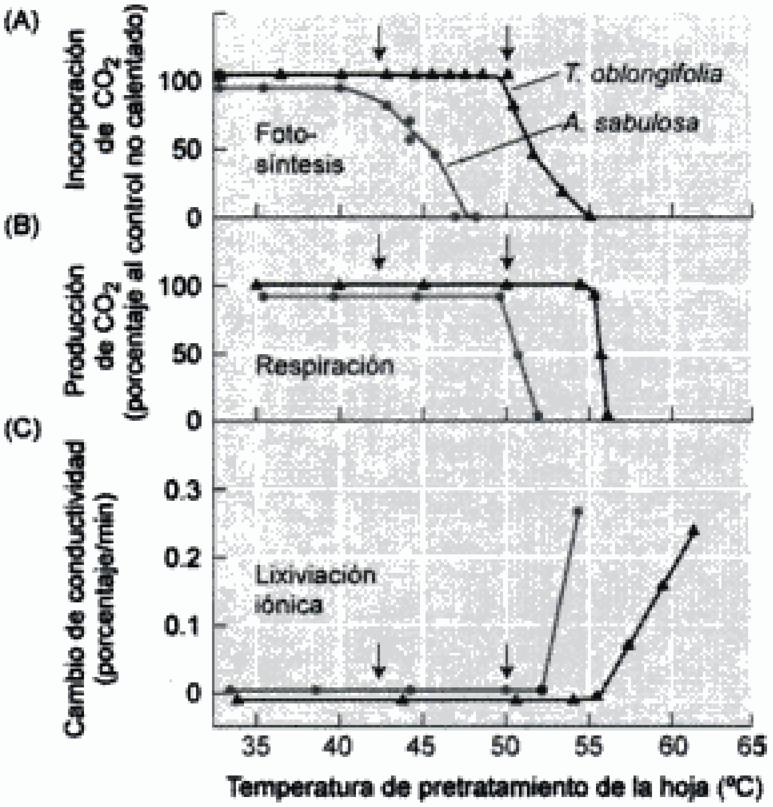


Figura 25.10 Respuestas de *Atriplex sabulosa* y *Tidestromia oblongifolia* al estrés térmico. La fotosíntesis (A) y la respiración (B) se midieron en hojas en la planta y la lixiviación iónica (C) se midió en secciones de hojas sumergidas en agua. Al comienzo del experimento, las tasas control se midieron en hojas a 30°C, una temperatura que no provoca daños. Las hojas que no se habían separado de la planta se expusieron entonces a las temperaturas indicadas durante 15 minutos y después se devolvieron a las condiciones control iniciales antes de que las tasas fueran registradas. Las flechas indican los umbrales de temperatura para la inhibición de la fotosíntesis en las dos especies. La fotosíntesis, la respiración y la permeabilidad de la membrana fueron más sensibles al daño por calor en *A. sabulosa* que en T. *oblongifolia*. En ambas especies, no obstante, la fotosíntesis fue más sensible al estrés por calor que cualquiera de los otros dos procesos y fue completamente inhibida a temperaturas que no alteraban la respiración. (Según Björkman y col. 1980).

la fotosíntesis disminuía. Estos resultados sugieren que, en los primeros estadios del daño por calor, la disminución de la fotosíntesis está más directamente relacionada con cambios en las propiedades de la membrana y con el desacoplamiento de los mecanismos de transferencia de energía en cloroplastos que con una desnaturalización generalizada de las proteínas.

Algunas adaptaciones protegen las hojas contra el calentamiento excesivo

En ambientes con una radiación solar intensa y altas temperaturas, las plantas evitan el excesivo calentamiento de sus hojas por reducción de su absorción de radiación solar. Esta adaptación es importante en ambientes cálidos y soleados en los que una hoja que transpira se acerca al límite superior de tolerancia a la temperatura. En estas condiciones, cualquier aumento en el calentamiento procedente del descenso de la evaporación del agua o del aumento de la absorción de energía puede provocar daños en la hoja.

Tanto la resistencia a la sequía como la resistencia al calor dependen de las mismas adaptaciones: pelos que reflejan la luz y capas de cera en las hojas; enrollamiento foliar y orientación vertical de las hojas, así como el crecimiento de pequeñas hojas altamente diseccionadas para minimizar el grosor de la capa estacionaria de aire y maximizar así las pérdidas de calor por convección y por conducción (véanse los capítulos 4 y 9). Algunos arbustos del desierto (por ejemplo, *Encelia farinosa*, de la familia de las compositas) tienen hojas dimórficas para evitar el excesivo calentamiento: las hojas verdes y casi sin pelos presentes en invierno son reemplazadas por hojas pubescentes blancas en verano.

A altas temperaturas las plantas producen proteínas de choque térmico

En respuesta a un aumento repentino de la temperatura de 5 a 10 °C, las plantas producen un conjunto de proteínas que se conocen globalmente como **proteínas de choque térmico (HSP)**. La mayoría de las HSP ayudan a que las células resistan el estrés por calor actuando como «chaperonas» moleculares. El estrés por calor provoca que muchas proteínas celulares que funcionan como enzimas o componentes estructurales se desplieguen o queden mal plegadas, dando lugar a una pérdida de su estructura y actividad enzimática.

Estas proteínas mal plegadas, con frecuencia se agregan y precipitan, creando serios problemas en las células. Las HSP actúan como chaperonas moleculares que ayudan al correcto plegamiento de las proteínas mal plegadas y agregadas. Esto facilita el correcto funcionamiento de la célula a temperaturas elevadas y estresantes.

Las proteínas de choque térmico fueron descubiertas en la mosca de la fruta (*Drosophila melanogaster*) y desde entonces se han identificado en otros animales y en humanos, así como en plantas, hongos y microorganismos. Por ejemplo, cuando plántulas de soja se transfieren bruscamente de 25 a 40 °C (justo por debajo de la temperatura letal), se suprime la síntesis del conjunto de mRNA y proteínas que normalmente se encuentran en la célula, mientras que aumenta la transcripción y la traducción de un grupo de 30 a 50 proteínas (HSP). Los nuevos transcritos de mRNA de las HSP se pueden detectar entre 3 y 5 minutos después del choque térmico (Sachs y Ho 1986).

Aunque las HSP de las plantas fueron identificadas inicialmente en respuesta a cambios bruscos de temperatura (25 °C a 40 °C) que rara vez ocurren en la naturalelos monómeros de HSF se asocien en trímeros que son entonces capaces de unirse a secuencias específicas del DNA conocidas como elementos de choque térmico (HSE). Una vez unido al HSE, el trímero HSF es fosforilado y promueve la transcripción de los mRNA de las HSP. A continuación, la HSP70 se une a HSF, lo que provoca la disociación del complejo HSF/HSE, y HSF se recicla a su forma monomérica. Así, por la acción de HSF se acumula HSP hasta ser suficientemente abundante como para unirse a HSF, y cesa entonces la producción de mRNA de las HSP.

Las HSP median la termotolerancia

Las condiciones que inducen la tolerancia térmica en plantas están íntimamente relacionadas con la acumulación de las HSP, pero esta correlación por sí sola no prueba que las HSP tengan una función esencial en la aclimatación al estrés térmico. Existen experimentos más concluyentes que muestran que la expresión de un HSF activado induce constitutivamente la síntesis de HSP y aumenta la termotolerancia de *Arabidopsis*. Los estudios con plantas de *Arabidopsis* que contienen un antisentido de la secuencia de DNA, que reduce la síntesis de las HSP70, mostraron que la temperatura más elevada a la que las plantas podrían sobrevivir se reducía en 2 °C comparada con la de plantas control, aunque las plantas mutantes crecían normalmente a temperaturas óptimas (Lee y Schoeggl 1996).

Presumiblemente la interrupción de la síntesis de todo el rango de HSP que son normalmente inducidas en las plantas conduciría a una pérdida mucho más dramática de la termotolerancia. Otros estudios con mutantes de *Arabidopsis* (Hong y Vierling 2000) y con plantas transgénicas (Queitsch y col. 2000) demuestran que al menos la HSP101 es un componente crítico para la termotolerancia tanto inducida como constitutiva de la planta.

La adaptación al estrés térmico está mediada por el calcio citosólico

Los enzimas que participan en las rutas metabólicas pueden responder de forma diferente a la temperatura, y esta termoestabilidad diferencial puede afectar a etapas específicas del metabolismo, antes de que las HSP puedan reestablecer la actividad por su capacidad como chaperonas. El estrés térmico puede, así, provocar cambios en el metabolismo que conduzcan a la acumulación de algunos metabolitos y a la reducción de otros. Estos cambios pueden alterar dramáticamente el funcionamiento de las rutas metabólicas y dar lugar a desequilibrios que pueden ser difíciles de corregir.

Además, el estrés térmico puede alterar la velocidad de las reacciones metabólicas que consumen o producen protones y esto puede afectar a la actividad de las

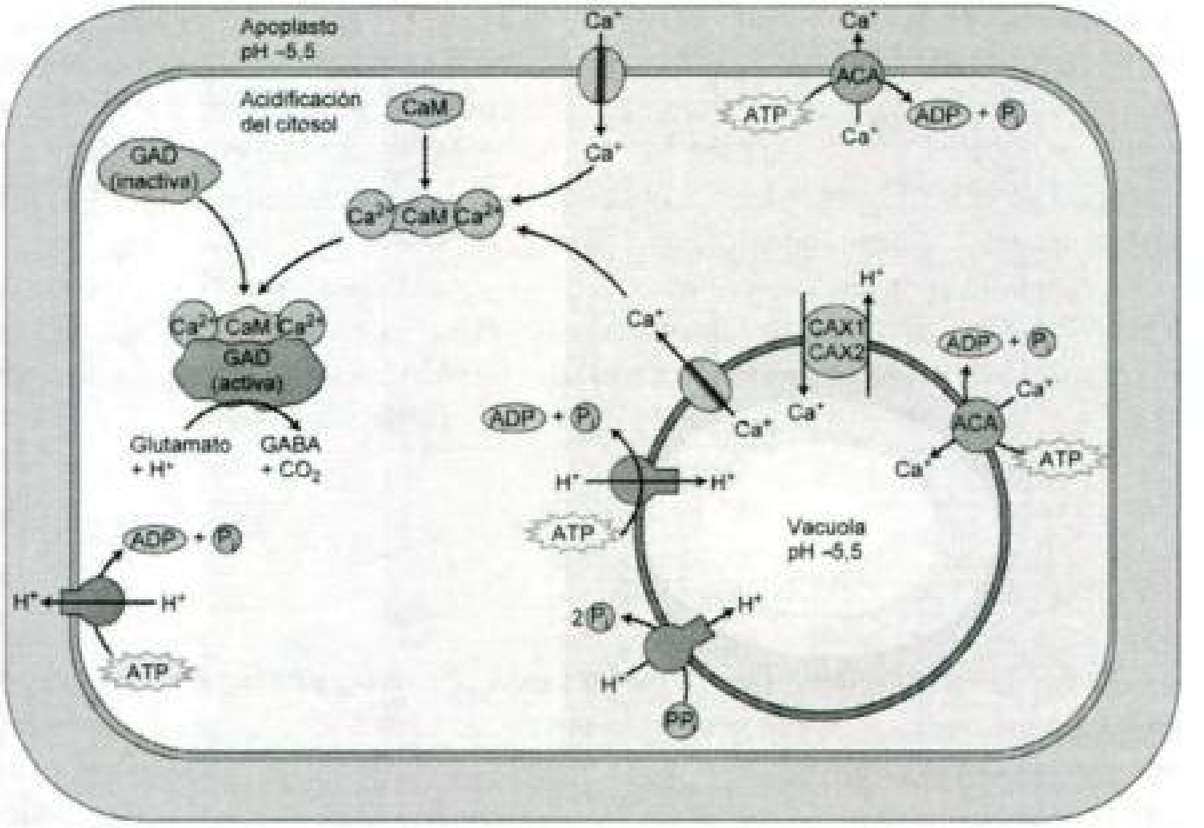


Figura 25.12 El estrés por calor provoca una reducción del pH citosólico desde los valores normales ligeramente alcalinos, probablemente por inhibición de las H^+-ATPasas y de las pirofosfatasas que bombean protones a través de la membrana plasmática o a la vacuola. Adicionalmente, el estrés por calor produce un cambio en la homeostasis de calcio en el interior de la célula al afectar la entrada de calcio al citosol bien a través de la membrana plasmática o bien de los canales de calcio vacuolar, o por la acción de salida de las ATPasas o de los protones cotransportadores. Este aumento del calcio citosólico conduce a la activación de la calmodulina (CaM), que se une a la glutamato descarboxilasa (GAD) y la convierte de la forma inactiva a la forma activa. La conversión de glutamato al aminoácido g-aminobutírico (GABA) se lleva a cabo con consumo de protones en el proceso, que media un aumento del pH citosólico. CAX1 y CAX2 son dos proteínas transportadoras, ACA: Ca^{2+}-ATPasa.

ATPasas que bombean protones desde el citosol al apoplasto y a las vacuolas (véase el capítulo 6). Esto podría provocar la acidificación del citosol e inducir perturbaciones metabólicas adicionales durante el estrés. Las células pueden tener mecanismos de aclimatación que palien los efectos del estrés térmico sobre el metabolismo.

Una de las aclimataciones metabólicas al estrés térmico es la acumulación del aminoácido no proteico ácido γ-butírico (GABA). Durante los episodios de estrés térmico, el GABA se acumula de seis a diez veces más que en las plantas no estresadas. El GABA es sintetiza a partir del aminoácido L-glutamato, en una única reacción catalizada por el enzima glutamato descarboxilasa (GAD). El GAD es uno de los diversos enzimas cuya actividad está modulada por una proteína reguladora activada por calcio-*calmodulina* (para más detalles sobre la acción de la calmodulina, véase el capítulo 14 en la página web).

La calmodulina activada por calcio activa a GAD (Figura 25.12) y aumenta la tasa de biosíntesis de GABA (Snedden y col. 1995). En plantas transgénicas que expresan la acuorina sensible al calcio, se ha demostrado que el estrés por altas temperaturas aumenta los niveles citosólicos de calcio y este aumento conduce a la activación de la GAD mediada por calmodulina y a la acumulación de GABA inducida por elevadas temperaturas.

Aunque GABA es una molécula importante de señalización en el tejido cerebral de mamíferos, no hay evidencias de que actúe como molécula de señalización en plantas. Se están investigando las posibles funciones de GABA en la resistencia al estrés por calor.

ENFRIAMIENTO Y CONGELACIÓN

El daño por **enfriamiento** tiene lugar en especies sensibles a temperaturas que son demasiado bajas para un crecimiento normal, pero no lo suficiente como para formar hielo. Normalmente, especies de origen tropical y subtropical son susceptibles al daño por enfriamiento. Entre los cultivos sensibles al frío están el maíz, los guisantes, el arroz, el tomate, el pepino, la batata y el algodón. Las plantas *Passiflora*, *Coleus* y *Gloxina* son ejemplos de plantas susceptibles.

Cuando las plantas que normalmente crecen a temperaturas cálidas (25-35 °C) son enfriadas a 10-15 °C, se produce el **daño por enfriamiento** o **daño por frío**: el crecimiento se ralentiza, aparecen decoloraciones o lesiones foliares y las hojas parecen empapadas, como si hubieran estado sumergidas en agua durante mucho tiempo. Si las raíces se enfrían, las plantas pueden marchitarse.

Las especies que, generalmente, son consideradas sensibles al frío muestran un rango de variación apreciable en su respuesta a las temperaturas bajas. La adaptación genética a las temperaturas más frías asociadas a las altitudes elevadas mejora la resistencia al frío (Figura 25.13). Además, con frecuencia, la resistencia aumenta si las plantas se exponen primero a temperaturas frías, pero sin que éstas lleguen a dañarlas (aclimatación). Por tanto, el daño por frío puede ser minimizado por la exposición lenta y gradual a temperaturas bajas. La exposición repentina a temperaturas próximas a los 0 °C, lo que se conoce como un *choque de frío*, aumenta notablemente la posibilidad de dañarlas.

El **daño por congelación**, por otro lado, se produce a temperaturas inferiores al punto de congelación del agua. La inducción total de la tolerancia a la congelación, al igual que en el enfriamiento, necesita un período de aclimatación a bajas temperaturas.

En el siguiente apartado examinaremos cómo el daño por frío altera las propiedades de la membrana, cómo los cristales de hielo dañan las células y los tejidos y cómo el ABA, la expresión génica y la síntesis de proteínas median en la aclimatación a la congelación.

Las propiedades de las membranas cambian en respuesta al daño por frío

Las plantas de hojas dañadas por frío muestran inhibición de la fotosíntesis, reducción del transporte de carbohidratos, menor intensidad de respiración, inhibición de la síntesis de proteínas y aumento de la degradación de las proteínas existentes. Todas estas respuestas parecen depender de un mecanismo primario común que implica la alteración funcional de la membrana durante el enfriamiento.

Por ejemplo, los solutos gotean desde las hojas de la planta sensible *Passiflora maliformis* (granadilla) cuando flotan en agua a 0 °C, pero no lo hacen en la planta resistente al frío *Passiflora caerulea* (fruta de la pasión). La pérdida de solutos al agua refleja un daño de la membrana plasmática y posiblemente también del tonoplasto. Por otra parte, la inhibición de la fotosíntesis y de la respiración refleja un daño en las membranas de cloroplastos y mitocondrias.

¿Por qué las membranas se ven afectadas por el frío? Las membranas vegetales están formadas por una bicapa lipídica en la que se encuentran embebidas proteínas y esteroles (véanse los capítulos 1 y 11). Las propiedades físicas de los lípidos influyen notablemente en las actividades de las proteínas integrales de membrana, incluidas las H^+-ATPasas, las proteínas transportadoras y las proteínas formadoras de canales que regulan el transporte de iones y otros solutos (véase el capítulo 6), así como en el transporte de enzimas de los que depende el metabolismo vegetal.

En las plantas sensibles al frío la bicapa lipídica tiene un alto porcentaje de cadenas de ácidos grasos saturados, y este tipo de membranas tiende a solidificar en un estado semicristalino a temperaturas superiores a los 0 °C. Hay que

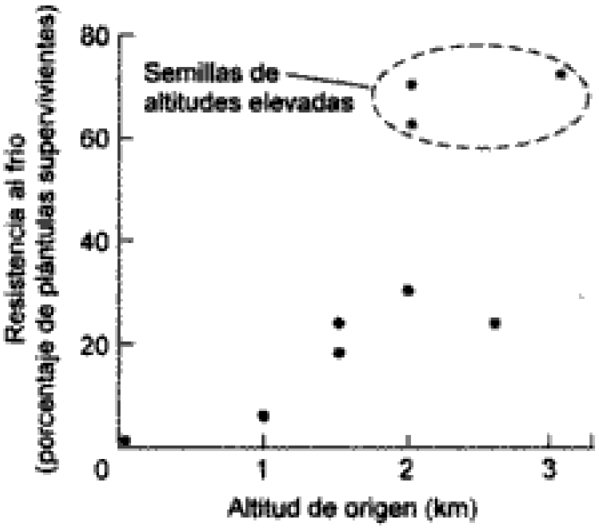


Figura 25.13 Supervivencia a baja temperatura de diferentes poblaciones de plántulas de tomate recogidos a diferentes altitudes en Sudamérica. Las semillas fueron recogidas de tomate tipo silvestre (*Licopersicon hirsutum*) y cultivadas en el mismo invernadero entre 18 y 25 °C. Todas las plántulas se sometieron durante 7 días a 0 °C y después se mantuvieron 7 días creciendo en una cámara de crecimiento caliente, tras lo cual se contaron los supervivientes. Las plántulas de semillas recogidas de las altitudes superiores mostraron una mayor resistencia al enfriamiento (choque de frío) que las semillas recogidas de latitudes inferiores. (Según Patterson y col. 1978).

TABLA 25.5
Composición de ácidos grasos de mitocondrias aisladas en especies resistentes y en especies sensibles al enfriamiento

	Porcentaje en peso del contenido total de ácido graso					
	Especies resistentes al enfriamiento			Especies sensibles al enfriamiento		
Principales ácidos grasos[a]	Brote de coliflor	Raíz de nabo	Brote de guisante	Brote de judía	Batata	Brote de maíz
Palmítico (16:0)	21,3	19,0	12,8	24,0	24,9	28,3
Esteárico (18:0)	1,9	1,1	2,9	2,2	2,6	1,6
Oleico (18:1)	7,0	12,2	3,1	3,8	0,6	4,6
Linoleico (18:2)	16,4	20,6	61,9	43,6	50,8	54,6
Linolénico (18:3)	49,4	44,9	13,2	24,3	10,6	6,8
Relación entre ácidos grasos insaturados y saturados	3,2	3,9	3,8	2,8	1,7	2,1

[a] Entre paréntesis se muestra el número de átomos de carbono en la cadena de ácido graso y el número de dobles enlaces.
Fuente: Según Lyons y col. (1964).

25.5) que tener en cuenta que los lípidos saturados, que no tienen dobles enlaces, y los ácidos grasos *trans*-monoinsaturados solidifican a temperaturas más altas que aquellas membranas con lípidos que contienen ácidos grasos insaturados.

A medida que la membrana se hace menos fluida, sus componentes proteicos no pueden funcionar con normalidad. El resultado es la inhibición de la actividad de la H^+-ATPasa, del transporte de solutos desde y hacia las células, de la transducción de energía (véanse los capítulos 7 y 11) y el metabolismo dependiente de enzimas. Además, las hojas sensibles al frío expuestas a altos flujos de fotones y a temperaturas frías están fotoinhibidas (véase el capítulo 7), lo que provoca un daño importante de la maquinaria fotosintética.

Los lípidos de membrana de plantas resistentes al frío suelen tener una proporción más elevada de ácidos grasos insaturados que las de plantas sensibles al frío (Tabla 25.5) y, durante el proceso de aclimatación a temperaturas frías, aumenta la actividad del enzima desaturasa y crece la proporción de lípidos insaturados (Williams y col. 1988; Palta y col. 1993). Esta modificación reduce la temperatura a la cual los lípidos de membrana empiezan a cambiar gradualmente de la fase fluida a la semicristalina y permite a las membranas mantener la fluidez a bajas temperaturas. Así, la desaturación de los ácidos grasos proporciona cierta protección contra el daño por enfriamiento.

La importancia de los lípidos de membrana para la tolerancia a bajas temperaturas se ha demostrado en trabajos realizados empleando mutantes y plantas transgénicas en las que la actividad de enzimas determinados provoca un cambio específico en la composición lipídica de la membrana, independiente de la aclimatación a bajas temperaturas. Por ejemplo, se transformaron plantas de *Arabidopsis* con un gen de *Escherichia coli* que aumentaba la proporción lípidos de la membrana con alto punto de fusión (saturados). Este gen aumentó notablemente la sensibilidad al frío de las plantas transformadas.

Del mismo modo, los mutantes *fab1* de *Arabidopsis* tienen incrementados los niveles de ácidos grasos saturados, sobre todo de 16:0 (véase la tabla 25.5 y las tablas 11.3 y 11.4). Cuando se sometieron a un período de 3 a 4 semanas a temperaturas frías, la fotosíntesis y el crecimiento fueron inhibidos gradualmente y la exposición a temperaturas frías destruyó los cloroplastos de este mutante. A temperaturas que no producen daño por frío, el mutante crecía igual que las plantas control (Wu y col. 1997). (Para información adicional de ejemplos de transformación, véase el **tema web 25.2.**)

La formación de cristales de hielo y la deshidratación de los protoplastos matan las células

La capacidad de tolerar las temperaturas de congelación en condiciones naturales varía mucho entre los tejidos. Las semillas, otros tejidos parcialmente deshidratados, y las esporas de los hongos pueden mantenerse indefinidamente a temperaturas próximas al cero absoluto (0 K, o –273 °C), lo que indica que las temperaturas muy bajas no son intrínsecamente dañinas.

Las células vegetativas totalmente hidratadas pueden mantener su viabilidad si se enfrían muy rápidamente, lo que evita la formación de cristales grandes de hielo que crecen lentamente y perforan y destruyen las estructuras intracelulares. Los cristales de hielo que se forman durante la congelación rápida son demasiado pequeños como para producir un daño mecánico. Asimismo, hay que descongelar estos tejidos con extremada rapidez para evitar la conversión de los pequeños cristales de hielo en cristales de tamaño dañino o para evitar la pérdida de vapor de agua por sublimación, que tendría lugar en ambos casos a temperaturas intermedias (–100 a –10 °C).

En condiciones naturales, sin embargo, el enfriamiento de órganos vegetales multicelulares nunca es tan rápido como para limitar la formación de cristales de hielo a cristales de pequeño tamaño que no resulten perjudiciales en células totalmente hidratadas. Normalmente, el hielo se forma primero dentro de los espacios intercelulares y en los vasos del xilema, de modo que el hielo puede propagarse rápidamente. Esta formación de hielo no es letal y el tejido se recupera totalmente si se calienta. Sin embargo, cuando las plantas se exponen a temperaturas de congelación durante un largo período de tiempo, el crecimiento de los cristales extracelulares da lugar al movimiento del agua líquida desde los protoplastos al hielo extracelular, provocando una excesiva deshidratación (para una descripción detallada de este proceso, véase el **tema web 25.3**).

la formación de cristales de hielo, incluso a temperaturas muy inferiores al punto de congelación teórico (véase el **tema web 25.3** para más detalles). Este *superenfriamiento profundo* se observa en especies como roble, arce, haya, fresno, nogal, nogal americano, rosa, rododendro, manzano, pera, melocotonero y ciruelo (Burke y Stushnoff 1979). El superenfriamiento profundo tiene lugar en el tallo y en el tejido foliar de especies leñosas como el abeto (*Picea engelmannii*) y el abeto subalpino (*Abies lasiocarpa*), que crecen en las montañas rocosas de Colorado.

La resistencia a la congelación se ve rápidamente debilitada al reanudarse el crecimiento en la primavera (Becwar y col. 1981). Los tejidos del tallo del abeto subalpino, que experimentan un superenfriamiento profundo, y permanecen viables por debajo de los –35 °C en mayo, pierden su capacidad para suprimir la formación de hielo en junio y entonces pueden morir a –10 °C.

Las células pueden sobreenfriarse sólo hasta unos –40 °C, temperatura a la que la formación de hielo se produce espontáneamente. La formación espontánea del hielo establece *los límites de bajas temperaturas* a las que sobreviven muchas especies alpinas y subárticas que llevan a cabo el superenfriamiento. También explica por qué la altitud del límite forestal en las cordilleras está cerca del mínimo isotermo de –40 °C.

Los protoplastos celulares suprimen la nucleación del hielo cuando experimentan superenfriamiento profundo. Además, las paredes celulares actúan como una barrera tanto para el crecimiento del hielo desde los espacios intercelulares como para evitar la pérdida del agua líquida desde el protoplasto al hielo extracelular, que se genera por un gradiente muy pronunciado de presión de vapor (Wisniewski y Arora 1993).

Muchas yemas florales (por ejemplo, de uva, arándano, melocotón y azalea) sobreviven durante el invierno por superenfriamiento profundo y se pueden producir importantes pérdidas económicas, sobre todo en melocotón, por la disminución de la tolerancia a la congelación de las yemas florales durante la primavera. Las células entonces no prolongan el superenfriamiento y los cristales de hielo que se forman extracelularmente en las escamas de las yemas extraen el agua del meristemo apical, lo que mata el ápice floral por deshidratación.

Las yemas florales de manzano y peral, las yemas vegetativas de todos los árboles frutales de climas templados, así como las células vivas de sus cortezas no se superenfrían, pero resisten a la deshidratación durante la formación del hielo. La resistencia a la deshidratación celular está muy desarrollada en especies leñosas que están sometidas a un promedio de temperaturas anuales mínimas inferior a –40 °C, sobre todo en las especies existentes en el norte de Canadá, Alaska, norte de Europa y Asia.

La formación de hielo comienza de –3 a –5 °C en los espacios intercelulares, donde los cristales continúan creciendo, alimentados por la retirada gradual del agua desde los protoplastos, que permanecen sin congelar. La resistencia a las temperaturas de congelación depende de la capacidad de los espacios extracelulares para acomo-

Normalmente se necesitan varios días de exposición a temperaturas frías para inducir totalmente una resistencia a la congelación. Las plantas de patata requieren 15 días de exposición al frío. Por otra parte, si las plantas se calientan de nuevo, pierden rápidamente la tolerancia a la congelación y, en 24 horas, vuelven a ser susceptibles. La necesidad de temperaturas bajas para inducir la aclimatación al frío o a la congelación, y la rápida pérdida de la aclimatación por la exposición a temperaturas cálidas explica la susceptibilidad de las plantas del sudeste de los Estados Unidos de América (y zonas climáticas similares con inviernos tremendamente variables) a temperaturas extremas en los meses de invierno, cuando la temperatura del aire puede caer de 20-25 °C a 0 °C en unas pocas horas.

Durante la aclimatación al frío se inducen numerosos genes

La expresión de ciertos genes y la síntesis de proteínas específicas son comunes a los estreses por calor y por frío pero, en algunos aspectos, la expresión de los genes inducidos por frío difiere de la del estrés por calor (Tomashow 2001). Mientras que durante los episodios de frío la síntesis de las proteínas que «mantienen la casa» (es decir, las proteínas que se sintetizan en ausencia de estrés) no está inhibida, durante el estrés por calor la síntesis de estas proteínas habituales sí lo está.

Por otro lado, la síntesis de varias proteínas de choque térmico que pueden actuar como chaperonas moleculares está activada bajo estrés por frío, del mismo modo a como lo está durante el estrés por calor. Esto sugiere que la desestabilización proteica que acompaña el estrés por calor y por frío, y los mecanismos de estabilización de la estructura de las proteínas en ambos casos son importantes para la supervivencia.

Otra clase importante de proteínas cuya expresión está activada por el estrés por frío son las **proteínas anticongelantes**. Las proteínas anticongelantes se descubrieron por primera vez en peces que viven bajo los casquetes polares. Como comentamos anteriormente, estas proteínas tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de los cristales de hielo de forma no coligativa, evitando así el daño por congelación a temperaturas de congelación intermedias. Las proteínas anticongelantes aportan a las soluciones acuosas la propiedad de la *histéresis térmica* (la transición desde el estado líquido al sólido se promueve a una temperatura menor que la de la transición de sólido a líquido) y por ello, a veces se las denomina también como **proteínas de histéresis térmica (THP)**.

Se han descubierto varios tipos de proteínas anticongelantes inducidas por frío en monocotiledóneas aclimatadas al frío invernal. Cuando se clonaron y secuenciaron los genes específicos que codifican estas proteínas, se encontró que todas las proteínas anticongelantes pertenecen al grupo de las endoquitinasas y endoglucanasas inducidas por infección por diferentes patógenos. Se cree que estas proteínas, llamadas teínas activadas por frío que pueden estar implicadas en la aclimatación a éste. Además, las plantas transgénicas CBF1 toleran mejor el frío que las plantas control.

ESTRÉS POR SALINIDAD

En condiciones naturales, las plantas superiores terrestres encuentran altas concentraciones de sal cerca de la orilla del mar y en los estuarios donde el agua del mar y el agua dulce se mezclan o se reemplazan con las mareas. Tierra adentro, la filtración de sal desde los depósitos geológicos marinos puede pasar a las áreas colindantes, lo que las convierte en inútiles para la agricultura. Sin embargo, un problema mucho mayor para la agricultura es la acumulación de sales en aguas de regadío.

La evaporación y la transpiración eliminan el agua pura del suelo (en forma de vapor), y esta pérdida de agua concentra los solutos en el suelo. Cuando el agua de irrigación contiene una gran concentración de solutos y no es posible eliminar las sales acumuladas por un sistema de drenaje, estas sales pueden alcanzar rápidamente niveles perjudiciales para especies sensibles a la sal. Se estima que cerca de un tercio de las tierras regadas en la Tierra están afectadas por la salinidad.

En esta sección analizaremos cómo funciona una planta afectada por la salinidad del agua y del suelo y examinaremos el proceso que siguen las plantas para evitar el estrés por salinidad.

La acumulación de sal en el suelo afecta el funcionamiento de las plantas y la estructura del suelo

En el análisis de los efectos de la sal en el suelo, distinguiremos entre altas concentraciones de Na^+, y altas concentraciones de sales totales (**salinidad**). Con frecuencia, los dos conceptos están asociados, y en algunas zonas tanto los iones Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cl^- y SO_4^{2-}, como el NaCl, contribuyen sustancialmente a la salinidad. La alta concentración de Na^+ de un suelo sódico no sólo puede dañar directamente las plantas, sino también degradar la estructura del suelo, reduciendo la porosidad y la permeabilidad al agua. Un suelo arcilloso sódico conocido como caliche es tan duro e impermeable que muchas veces es necesario ¡utilizar dinamita para excavarlo!

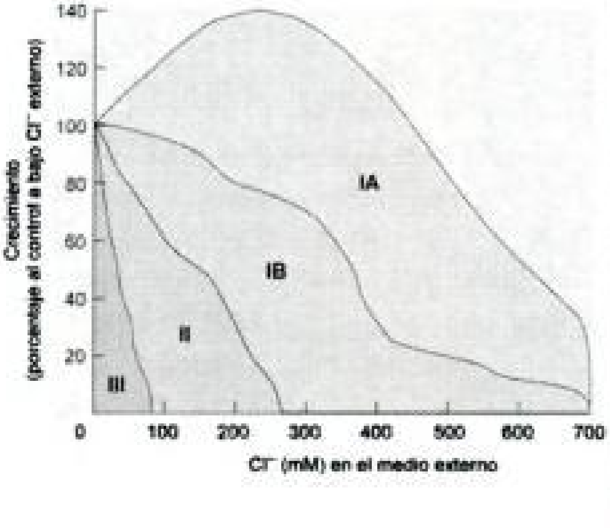
En el campo, la salinidad del agua del suelo o del agua de irrigación se mide en términos de conductividad eléctrica o en términos de potencial osmótico. El agua pura es un mal conductor de la corriente eléctrica; la conductividad de una muestra de agua es debida a los iones que se encuentran disueltos en ella. Cuanto mayor es la concentración de sales en el agua, mayor es su conductividad eléctrica y más se reduce su potencial osmótico (mayor es la presión osmótica) (Tabla 25.6).

TABLA 25.6
Propiedades del agua de mar y del agua de riego de buena calidad

Propiedad	Agua de mar	Agua de riego
Concentración de iones (mM)		
Na^+	457	<2,0
K^+	9,7	1,0
Ca^{2+}	10	0,5-2,5
Mg^{2+}	56	0,25-1,0
Cl^-	536	<2,0
SO_4^{2-}	28	0,25-2,5
HCO_3^-	2,3	<1,5
Potencial osmótico (MPa)	−2,4	−0,039
Sales disueltas totales (mg L^{-1} o ppm)	32.000	500

Fuente: Tomado de la tabla 11.2 de Levitt 1980.

Con frecuencia, el agua de irrigación en regiones áridas y semiáridas es de baja calidad. En los Estados Unidos, el contenido de sal de las aguas de la cabecera del río Colorado es sólo de 50 mg L^{-1}, pero unos 2000 km corriente abajo, en el sur de California, el contenido de sal del mismo río alcanza valores de unos 900 mg L^{-1}, suficiente para impedir el crecimiento de cultivos sensibles a la sal como es el caso del maíz. El agua de irrigación de Texas puede contener entre 2000 y 3000 mg L^{-1} de sales. Una aplicación anual de 1 m^3 de estas aguas añadirá al suelo entre 20 y 30 toneladas de sales por hectárea (de 8-12 toneladas por acre). Estos niveles de sal son dañinos para todos los cultivos incluso para los más resistentes.



Grupo IA (halofitas) incluye sosa blanca (*Suaeda maritima*) y arbusto salino (*Atriplex nummularia*). Estas especies muestran una estimulación de crecimiento con niveles de Cl^- menores de 400 nM.

Grupo IB (halofitaas) incluye suaeda monoica (*Spartina x townsendii*) y remolacha azucarera (*Beta vulgaris*). Estas plantas toleran la sal, pero tiene su crecimiento ralentizado.

Grupo II (halofitas y no halofitas) incluye herbáceas halofíticas tolerantes a la sal que carecen de glándulas salinas como la *Festuca rubra* subsp. (*littoralis*) y *Puccinellia peisonis*, y no halofitas, como el algodón (*Gossypium* spp.) y la cebada (*Hordeum vulgare*). Todas son inhibidas por altas concentraciones salinas. En este grupo, el tomate (*Lycopersicon esculentum*) es intermedio y el guisante común (*Phaseolus vulgaris*) y la soja (*Glycine max*) son sensibles.

Las especies del **Grupo III (no halofitas muy sensibles a la sal)** están fuertemente inhibidas o mueren a bajas concentraciones de sal. Están incluidos muchos árboles frutales como cítricos aguacates y frutas con hueso.

Figura 25.14 Crecimiento de diferentes especies sometidas a salinidad respecto al de los controles no tratados con sales. Las curvas que separan las regiones se basan en los datos de diferentes especies. Las plantas se cultivaron en estas condiciones durante 1–6 meses. (Según Greenway y Moons 1980.)

La salinidad reduce el crecimiento y la fotosíntesis en las especies sensibles

Las plantas pueden dividirse en dos grandes grupos según su respuesta a una elevada concentración de sales. Las **halofitas** son nativas de suelos salinos y completan su ciclo vital en este entorno. Las **glicofitas** (literalmente, «las plantas dulces»), o no halofitas, son aquellas que no son capaces de resistir el mismo nivel de sales que las halofitas. Normalmente, existe un nivel crítico de concentración de sales a partir del cual las glicofitas comienzan a presentar síntomas de inhibición del crecimiento, decoloración de las hojas y pérdida de peso seco.

Entre los cultivos que son más sensibles a las sales están el maíz, la cebolla, los cítricos, la lechuga y las judías; el algodón y la cebada son cultivos moderadamente tolerantes, y la remolacha y la palmera datilera son altamente tolerantes (Greenway y Munns 1980). Algunas especies altamente tolerantes a las sales, como *Suaeda marítima* (una planta de las marismas) y *Atriplex mummularia* (un arbusto salino), muestran una estimulación del crecimiento a concentraciones de Cl^- varias veces superior a los niveles letales para las especies sensibles (Figura 25.14).

El daño salino implica efectos osmóticos y efectos específicos de iones

Los solutos disueltos en la zona radicular reducen el potencial osmótico (lo hacen más negativo), y a su vez el potencial hídrico del agua. El equilibrio hídrico total de la planta se ve así afectado debido a que las hojas necesitan desarrollar un potencial hídrico más negativo para mantener un gradiente favorable entre el suelo y las hojas (véase el capítulo 4). Este efecto de los solutos disueltos es similar al que produce el déficit hídrico del suelo (comos analizamos anteriormente en este capítulo) y la mayoría de las plantas responden a los niveles excesivos de salinidad en el suelo del mismo modo a como lo hacen frente al déficit hídrico.

Una diferencia importante entre el bajo potencial hídrico provocado por la salinidad o por la desecación del suelo es la cantidad total de agua disponible. Durante la desecación del suelo la planta puede obtener una cantidad limitada de agua, lo que provoca el descenso paulatino de los potenciales hídricos. En la mayoría de los entornos salinos existe una gran cantidad de agua disponible (podemos decir ilimitada) a un potencial hídrico constante, aunque reducido.

Es de particular importancia el hecho de que la mayoría de las plantas pueden ajustarse osmóticamente cuando crecen en suelos salinos. Este ajuste ayuda a prevenir la pérdida de turgencia (que poco a poco iría ralentizando el crecimiento de las células; véase la figura 25.1) al ir generando un potencial hídrico menor. Pero estas plantas con frecuencia continúan creciendo, aunque más lentamente después de este ajuste por una razón todavía desconocida que curiosamente no está relacionada con la turgencia insuficiente (Gressan y col. 1990).

Además de las respuestas de las plantas a los bajos potenciales hídricos, los **efectos tóxicos** específicos de los iones también se producen cuando éstos se acumulan en las células a concentraciones perjudiciales (sobre todo Na^+, Cl^- o SO_4^{2-}). En condiciones no salinas, el citosol de las células de plantas superiores contiene entre 100 y 200 mM de K^+ y de 1 a 10 mM de Na^+, un medio iónico óptimo para muchos enzimas. Una relación anormalmente alta de Na^+ y K^+ y altas concentraciones de sales totales inactiva los enzimas e inhibe la síntesis de proteínas. A altas concentraciones, el Na^+ puede desplazar al Ca^{2+} en la membrana plasmática de los pelos radiculares de algodón y provocan un cambio en la permeabilidad de la membrana plasmática que puede ser detectado por la pérdida de K^+ de las células (Cramer y col. 1985).

Cuando se acumulan altas concentraciones de iones Na^+ y/o Cl^- en los cloroplastos, se inhibe la fotosíntesis. Dado que el transporte fotosintético de electrones parece ser relativamente insensible a las sales, bien el metabolismo del carbono bien la fosforilación deben verse afectadas. Los enzimas extraídos de especies tolerantes a la sal son tan sensibles a la presencia de NaCl como los de las glicofitas, sensibles a la sal. Por tanto, la resistencia de las halofitas a la sal no es una consecuencia de un metabolismo de resistencia a la sal, lo que indica que debe haber otros mecanismos implicados, tal y como analizaremos en la próxima sección.

Las plantas utilizan diferentes estrategias para evitar el daño por sal

Las plantas minimizan el daño por sal excluyendo las sales de los meristemos, sobre todo, en los brotes, y de las hojas que se están expandiendo y realizando la fotosíntesis activamente. En las plantas sensibles a la sal, la resistencia a niveles moderados de salinidad en el suelo depende de la capacidad de las raíces de evitar que los iones potencialmente perjudiciales lleguen hasta el vástago.

Recordemos del capítulo 4 que la banda de Caspary supone una restricción al movimiento apoplástico de los iones hacia el xilema. Para evitar la banda de Caspary, los iones han de pasar a la ruta simplástica a través de las membranas celulares. Esta transición ofrece a las plantas resistentes a la sal un mecanismo para excluir parcialmente los iones perjudiciales.

Los iones sodio pueden entrar en las raíces pasivamente (por movimiento a favor de gradiente de potencial electroquímico; véase el capítulo 6), por lo que las células de las raíces deben utilizar energía para activar el transporte de Na^+ de vuelta hacia la solución extracelular. Por el contrario, el Cl^- es excluido por el potencial eléctrico negativo de la membrana celular y la baja permeabilidad de la membrana plasmática de las raíces a este ión. El movimiento de Na^+ a las hojas es posteriormente

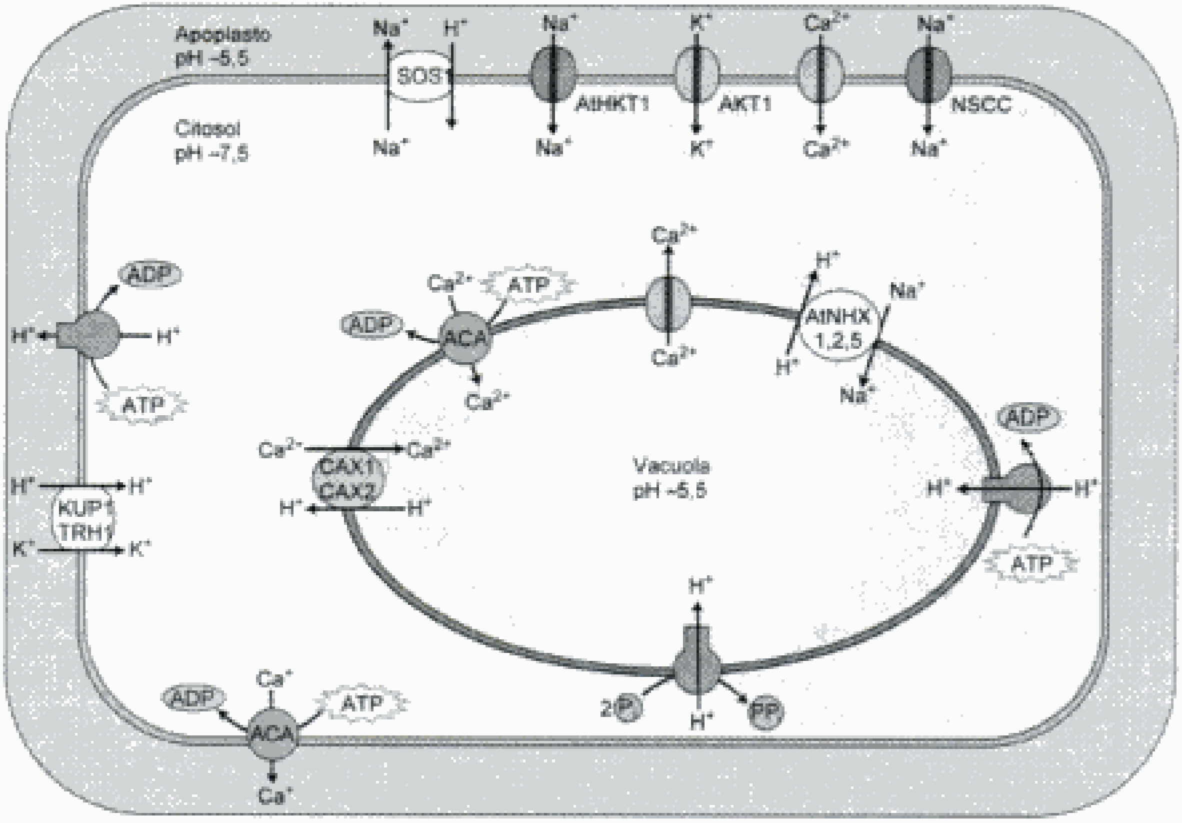


Figura 25.15 Proteínas que median el transporte de sodio, potasio y calcio durante el estrés salino. SOS1, un transportador de la membrana plasmática antiporte Na^+/H^+; ACA, una Ca^{2+}-ATPasa de la membrana plasmática/tonoplasto; KUP1/TRH1, un cotransportador K^+/H^+ de alta afinidad; atHKT1, un transportador de entrada de sodio; AKT1, un canal de K^+; NSCC, un canal catiónico no selectivo; CAX1 ó 2, un transportador antiporte Ca^{2+}/H^+; atNHX1, 2 ó 5, un transportador antiporte Na^+/H^+ de endomembrana. También se indican en la figura las proteínas que están implicadas en la homeostasis iónica, pero cuya identidad molecular bien se desconoce por el momento o no ha sido confirmada en plantas. Entre ellas se encuentran las proteínas que forman los canales de calcio de la membrana plasmática y del tonoplasto y las ATPAsas vacuolares que bombean protones y las pirofosfatasas. La diferencia del potencial de membrana a través de la membrana plasmática suele ser de 120 a 200 mV, negativo en el interior; a través de la membrana del tonoplasto es de 0 a 20 mV; positivo en el interior.

ta que el uso de carbohidratos o aminoácidos. Por otro lado, las altas concentraciones de iones son tóxicas para muchos enzimas citosólicos, por lo que los iones deben acumularse en la vacuola.

Como el NaCl es la sal más abundante a la que se enfrentan las plantas en el estrés salino, los sistemas de transporte que facilitan la compartimentalización de los iones Na^+ en la vacuola son fundamentales (Binzel y col. 1998). Tanto el Ca^{2+} como el K^+ afectan a las concentraciones de Na^+ intracelular (Zhong y Läuchli 1994). A concentraciones altas de Na^+, se inhibe la incorporación de K^+ mediante un sistema de transporte de alta afinidad K^+/Na^+, HKT1, y este transportador actúa como un sistema de incorporación de Na^+ (Figura 25.15). El calcio, por otra parte, aumenta la selectividad K^+/Na^+ lo que hace aumentar la tolerancia a la sal (Liu y Zhu 1997).

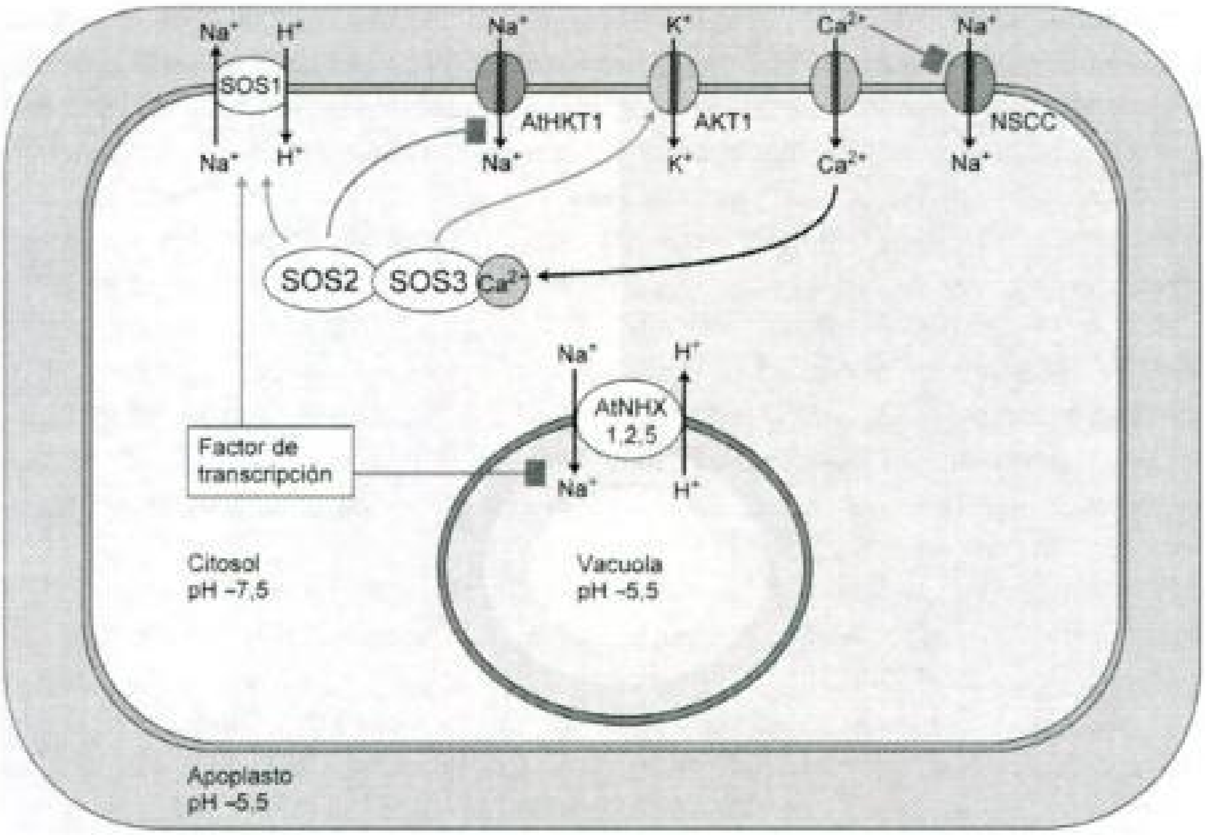


Figura 25.16 Regulación de la homeostasis iónica por la ruta de transducción de la señal SOS, el estrés salino y los niveles de calcio. Las flechas rojas indican la regulación positiva y las azules la regulación negativa. Las proteínas que se muestran en color amarillo son activadas por estrés salino. SOS1, un transportador antiporte Na^+/H^+ de la membrana plasmática; SOS2, una serina/treonina quinasa; SOS3, una proteína de unión a Ca^{2+}; HKT1, un transportador de entrada de sodio; AKT1, un canal de K^+; NSCC, un canal catiónico no selectivo; NHX1, 2 ó 5, un transportador antiporte Na^+/H^+ de la endomembrana; en naranja se muestra una proteína indeterminada que actúa como canal de calcio. El estrés salino activa un canal de calcio que provoca el aumento del calcio citosólico que activa la cascada SOS a través de SOS3. La cascada SOS debe regular negativamente a AKT1. Al mismo tiempo, la cascada SOS aumenta la actividad de SOS1 y de AKT1. A través de un factor de transcripción aún indeterminado, la cascada SOS aumenta la transcripción de SOS1 mientras que disminuye la transcripción del gen o genes NHX. A bajas concentraciones de calcio, NSCC puede también funcionar como una alternativa al sistema de entrada de sodio, aunque este transportador es inhibido por niveles altos de calcio. La diferencia de potencial a través de la membrana plasmática suele ser de 120 a 200 mV, negativo en el interior, mientras que en el tonoplasto es de 0 a 20 mV, positivo en el interior. (Véase esquema en color en el CD.)

El sodio es transportado a través de la membrana plasmática y el tonoplasto

Como analizamos en el capítulo 6, los H^+ bombeados desde la membrana plasmática y el tonoplasto proporcionan la fuerza (potencial electroquímico de H^+) que dirige el transporte secundario de iones (véase la figura 25.15). Una ATPasa es la principal responsable del aumento del ΔpH y del gradiente de potencial a través de la membrana plasmática y una H^+-ATPasa vacuolar genera un ΔpH y un potencial de membrana a través del tonoplasto (Hasegawa y col. 2000).

cuando las temperaturas son altas (mayores de 20 °C), el consumo de oxígeno por parte de las raíces y la fauna y los microorganismos del suelo puede agotarlo en la mayor parte del suelo en tan solo 24 horas.

Las **plantas sensibles a la inundación** se ven seriamente dañadas tras 24 horas de anoxia. El crecimiento y la supervivencia de muchas especies vegetales se ven muy reducidos en estas condiciones y el rendimiento de las cosechas puede descender drásticamente. Por ejemplo, el rendimiento del guisante (*Pisum sativum*), un ejemplo de una planta sensible a la inundación, puede reducirse a la mitad con tan solo 24 horas de inundación. Otras plantas, sobre todo las especies que no están adaptadas a crecer en condiciones de humedad continua y muchos cultivos, se ven afectadas de forma leve por la inundación y se consideran plantas tolerantes a ésta. Las **plantas tolerantes a la inundación** pueden soportar una anoxia (carencia de oxígeno) temporalmente, pero no durante períodos superiores a varios días.

Por otro lado, la vegetación natural de pantanos y ciénagas y cultivos como el arroz están bien adaptados a resistir deficiencias de oxígeno en el entorno que rodea la raíz. Las plantas de las zonas encharcadas pueden resistir la anoxia y, por tanto, crecer y sobrevivir durante períodos de tiempo superiores a varios meses con su sistema radicular en condiciones de anoxia. La mayoría de estas plantas tienen adaptaciones especiales que serán analizadas aquí, y que permiten obtener oxígeno en los entornos próximos para que los tejidos puedan soportar dichas condiciones de anoxia. Prácticamente todas las plantas necesitan oxígeno cuando son metabólicamente activas y se pueden clasificar de acuerdo con el tiempo que pueden soportar en condiciones de anoxia en su entorno radicular sin sufrir un daño sustancial.

En las siguientes secciones analizaremos el daño causado por la anaerobiosis en raíces y brotes, cómo la vegetación de tierras encharcadas se enfrenta a las bajas tensiones de oxígeno y las diferentes aclimataciones al estrés anóxico que permiten distinguir entre especies tolerantes a la inundación y especies sensibles a la inundación.

Los microorganismos anaeróbicos son activos en suelos saturados de agua

Cuando los suelos carecen por completo de O_2 molecular, la función de los microorganismos del suelo es particularmente importante para la vida y el crecimiento de las plantas. Los microorganismos anaeróbicos del suelo obtienen su energía de la reducción del nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-) o a óxido nitroso (N_2O) y nitrógeno molecular (N_2). Estos gases (N_2O y N_2) se pierden a la atmósfera en un proceso llamado desnitrificación. A medida que las condiciones se hacen cada vez más reductoras, los microorganismos anaerobios reducen Fe^{3+} a Fe^{2+} y debido a su mayor solubilidad, el Fe^{2+} puede alcanzar concentraciones tóxicas cuando los suelos están en condiciones anaeróbicas durante muchas semanas. Otros microorganismos anaerobios pueden reducir sulfato (SO_4^{2-}) a sulfuro de hidrógeno (H_2S), un veneno que afecta la respiración.

Cuando los microorganismos anaerobios tienen un aporte abundante de sustrato orgánico, los metabolitos bacterianos como el ácido acético y el ácido butírico pueden ser liberados al agua del suelo y estos ácidos, junto a compuestos de azufre reducidos, son los que dan ese olor desagradable al agua encharcada. Todas estas sustancias producidas por los microorganismos en condiciones anaeróbicas son tóxicas para las plantas a altas concentraciones.

Las raíces resultan dañadas en entornos anóxicos

La tasa respiratoria y el metabolismo de las raíces se ven afectados incluso antes de que el O_2 sea totalmente eliminado del entorno de la raíz. La **presión crítica de oxígeno (COP)** es la presión de oxígeno a la cual la tasa respiratoria empieza a reducirse por la deficiencia de O_2. Para un ápice radicular de maíz en una solución nutritiva en agitación y a 25 °C, el COP es de unas 0,20 atmósferas (20 kPa o 20% de O_2 en volumen), que es casi la concentración que hay en el aire. A esta presión parcial de oxígeno (para un análisis de la presión parcial, véase el **tema web 9.3**), la velocidad de difusión del O_2 disuelto desde la solución a los tejidos y de una célula a otra es la misma que la velocidad de utilización del O_2. Sin embargo, los ápices radiculares son metabólicamente muy activos, por lo que las tasas respiratorias y de recambio del ATP son comparables a las de los tejidos de mamíferos.

En las zonas más viejas de la raíz, donde las células son maduras y completamente vacuoladas y la tasa de respiración es menor, la COP suele estar en el rango de 0,1 a 0,05 atmósferas. Cuando las concentraciones de O_2 están por debajo de la COP, el centro de la raíz se convierte en *anóxico* (carece totalmente de oxígeno) o *hipóxico* (parcialmente deficiente en oxígeno).

La COP es menor cuando la respiración se reduce a causa de temperaturas más frías; también depende del tamaño del órgano y del grado de compactación celular. Los frutos grandes son capaces de permanecer totalmente aeróbicos debido a los grandes espacios intercelulares que permiten fácilmente la difusión gaseosa. Para células aisladas, una presión parcial de O_2 de 0,01 atmósferas (1 % de O_2 en la fase gaseosa) puede ser adecuada, debido a que la difusión a pequeñas distancias asegura un aporte adecuado de O_2 a las mitocondrias. Una presión parcial muy baja de O_2 en la mitocondria es suficiente para mantener la fosforilación oxidativa.

El valor de K_m (constante de Michaelis-Menten; véase el capítulo 2 en la página web) para la citocromo oxidasa es de 0,1 a 1,0 μM, una fracción mínima de la concentración del O_2 disuelto en equilibrio con el aire (277 μM a 20 °C). La gran dife-

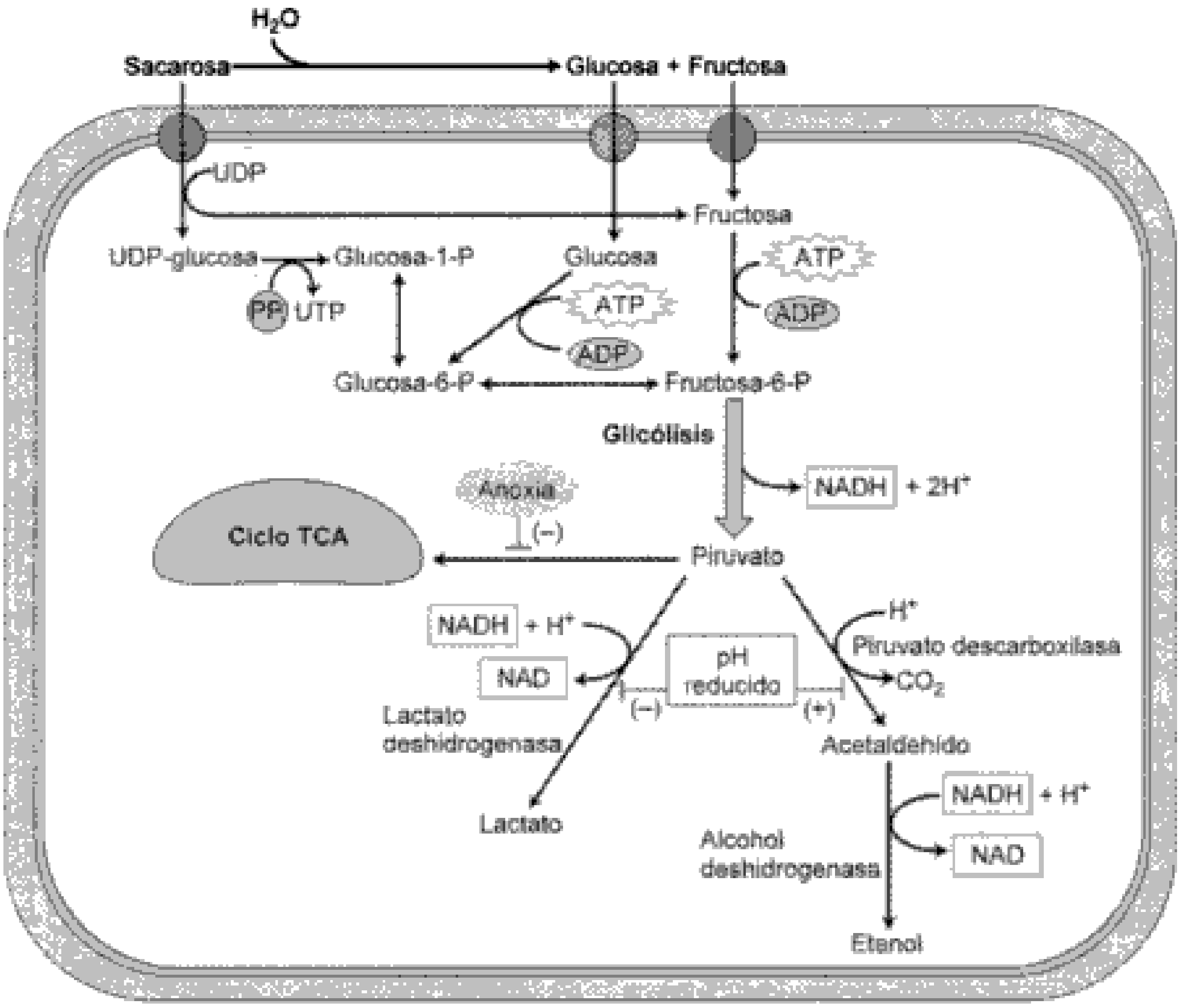

H$_2$O
Sacarosa
Glucosa + Fructosa
UDP
Fructosa
UDP-glucosa
Glucosa-1-P
Glucosa
ATP
PPi
UTP
ATP
ADP
ADP
Glucosa-6-P
Fructosa-6-P
Glicólisis
NADH + 2H$^+$
Anoxia
(–)
Ciclo TCA
Piruvato
NADH + H$^+$
H$^+$
Piruvato descarboxilasa
NAD
pH reducido
CO$_2$
(–)
(+)
Lactato deshidrogenasa
Acetaldehído
NADH + H$^+$
Lactato
Alcohol deshidrogenasa
NAD
Etanol

Figura 25.17 Durante los episodios de anoxia, el piruvato producido por la glicólisis es fermentado inicialmente a lactato. La producción de protones por glicólisis y otras rutas metabólicas y el descenso en el transporte de protones a través de la membrana plasmática y del tonoplasto provoca una reducción del pH citosólico. A un pH más bajo, la actividad de la lactato deshidrogenasa se inhibe y se activa la piruvato descarboxilasa. Esto conduce a un aumento de la fermentación etanólica y a un descenso de la fermentación láctica. La ruta de la fermentación etanólica consume más protones que la ruta de fermentación láctica. Esto aumenta el pH citosólico y aumenta la capacidad de la planta para sobrevivir al episodio de anoxia.

rencia entre los valores de COP para un órgano o tejido y los requerimientos de O$_2$ de la mitocondria se explica por la lenta difusión del O$_2$ disuelto en un medio acuoso.

En ausencia de O$_2$, el transporte electrónico y la fosforilación oxidativa en las mitocondrias cesan, el ciclo de los ácidos tricarboxílicos no puede funcionar y sólo se produce ATP por fermentación. Así, cuando el aporte de O$_2$ es insuficiente para la respiración aeróbica, las raíces comienzan a fermentar piruvato (formado en la glicólisis; véase el capítulo 11) a lactato, por acción de la lactato deshidrogenasa (LDH) (Figura 25.17). Sin embargo, en los ápices de las raíces de maíz, la fermentación del lactato es transitoria debido a que la reducción del pH intracelular lleva rápidamente a pasar de la fermentación láctica a la fermentación alcohólica. El cambio se produce a causa de la diferencia de pH óptimo de los enzimas citosólicos implicados.

A pH ácido, el enzima LDH está inhibido y la piruvato descarboxilasa está activa. El rendimiento neto de ATP en la fermentación es de sólo 2 moléculas de ATP por mol de hexosa que entra en la respiración (comparado con los 36 moles de ATP que se obtienen por cada mol de hexosa que entra en la respiración aeróbica). Por tanto, el daño en el metabolismo radicular por la falta de O_2 se debe en parte a la falta de ATP para impulsar los procesos metabólicos esenciales (Drew 1997).

Para medir el pH intracelular en ápices vivos de raíces de maíz obtenidos en condiciones no destructivas se ha utilizado la espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) (Robert y col. 1992). En células sanas, el contenido de las vacuolas tiene un pH más ácido (pH 5,8) que el citoplasma (pH 7,4), pero en condiciones de extrema deficiencia de O_2, los protones van saliendo gradualmente desde las vacuolas al citoplasma, lo que aumenta su acidez. Estos cambios en el pH (*acidosis citosólica*) están asociados con el comienzo de la muerte celular.

Aparentemente, el transporte activo de H^+ al interior de la vacuola por las ATPasas del tonoplasto se ralentiza por la falta de ATP y sin la actividad ATPasa no es posible mantener el gradiente normal de pH entre el citosol y la vacuola. La acidosis citosólica altera irreversiblemente el metabolismo en el citoplasma de las plantas superiores, del mismo modo a lo que ocurre en las células anóxicas de los animales. Esta acidosis del citoplasma es la que causa daños y la duración y el grado son los principales factores que distinguen a las especies sensibles a la inundación de las tolerantes.

La falta del O_2 necesario en las raíces también daña los brotes

Las raíces anóxicas o hipóxicas carecen de energía suficiente para mantener los procesos fisiológicos de los que dependen los brotes. Diversos experimentos han demostrado que la incapacidad de las raíces de trigo y de cebada para absorber elementos esenciales y transportarlos al xilema (y desde allí al vástago) conduce rápidamente a una falta de iones en tejidos en desarrollo y expansión. Las hojas más maduras envejecen prematuramente debido a la redistribución de los elementos móviles por el floema (N, P, K) hacia las hojas más jóvenes. La menor permeabilidad de las raíces al agua produce con frecuencia una disminución del potencial hídrico de las hojas, que se marchitan, aunque este descenso es temporal si se cierran los estomas, lo que evita posteriores pérdidas de agua por transpiración.

La hipoxia acelera la producción del precursor del etileno, el **ACC (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico)** en las raíces (véase el capítulo 22). En tomate, el ACC viaja a través de la savia del xilema a los brotes donde, en contacto con el oxí-

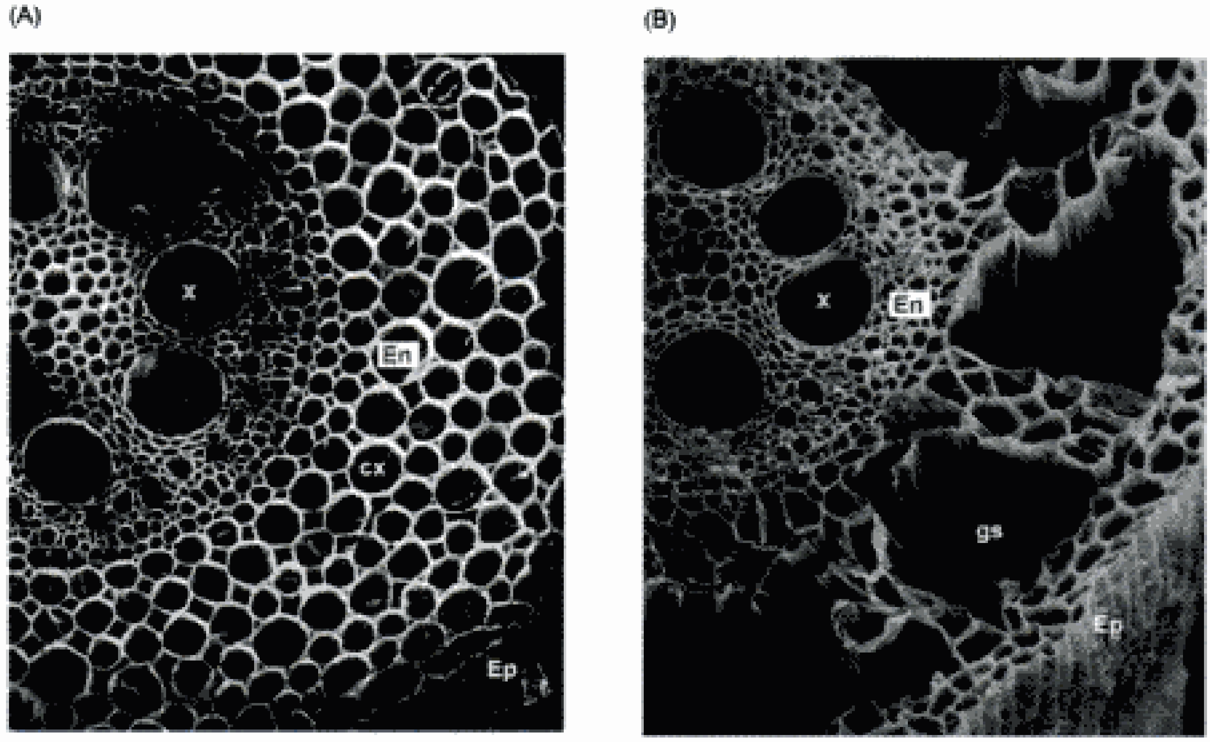


Figura 25.18 Micrografía electrónica de barrido de secciones transversales de raíces de maíz en las que se muestran los cambios en la estructura dependientes del aporte de oxígeno. (150×) (A) Raíz control, con aporte de aire, con células corticales intactas. (B) Raíz cultivada en una solución nutritiva no aireada, con deficiencia de oxígeno. Obsérvense los grandes espacios llenos de gas (gs) en el córtex (cx), formados por la degeneración de células. El cilindro vascular (todas las células interiores a la endodermis, En) y la epidermis (Ep) permanecen intactas. X, xilema. (Fotografías gentileza de J. L. Basq y M. C. Drew.)

En muchas plantas propias de tierras encharcadas como el arroz, ciertas células están separadas por grandes espacios llenos de gases en un tejido conocido como **aerénquima**, que se desarrolla independientemente de los estímulos ambientales. Sin embargo, en algunas plantas propias de tierras secas, tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas, la deficiencia de oxígeno induce la formación del aerénquima en la base del tallo y en las raíces en desarrollo (Figura 25.18).

En el ápice radicular del maíz, la hipoxia estimula la actividad de la ACC sintasa y la ACC oxidasa, por tanto, el ACC y el etileno se sintetizan más rápidamente. El etileno produce la muerte y desintegración de las células en el córtex radicular; los espacios que antes ocupaban estas células pueden llenarse de gas y facilitan el movimiento del O_2.

La muerte celular señalizada por el etileno es altamente selectiva; las células de la raíz que no están destinadas a morir no resultan afectadas. Se cree que el aumento en la concentración de Ca^{2+} citosólico forma parte de la ruta de transducción de señal que conduce a la muerte celular. Los compuestos químicos que aumentan la concentración de Ca^{2+} promueven la muerte celular incluso en condiciones no inductoras de dicha muerte; a la inversa, los compuestos químicos que reducen la concentración de Ca^{2+} bloquean la muerte celular en raíces hipóxicas que normalmente formarían aerénquima. La muerte celular dependiente de etileno en respuesta a la hipoxia es un ejemplo de *muerte celular programada*, que se analizó en el capítulo 16 (Drew 2000).

Algunas plantas (o parte de ellas) pueden tolerar exposiciones a condiciones estrictamente anaeróbicas durante un largo período de tiempo (semanas o meses). Entre ellas se encuentran el embrión y el coleóptilo de arroz y de *Echinochloa crussgalli* var. *oryzola* (arroz silvestre o arroz indio) y los rizomas (tallos horizontales bajo el suelo) de *Schoenoplectus lacustris*, de *Scirpus maritimus* y de *Typha angustifolia*. Estos rizomas pueden sobrevivir durante muchos meses y expandir sus hojas en una atmósfera anaeróbica.

En la naturaleza, los rizomas pasan el invierno en lodos anaeróbicos en los bordes de los lagos. En primavera, una vez que las hojas se han expandido sobre el lodo o la superficie del agua, el O_2 difunde hacia abajo a través del aerénquima al rizoma. Entonces el metabolismo cambia de un tipo anaeróbico (fermentación) a uno aeróbico y las raíces empiezan a crecer utilizando el oxígeno disponible. Asimismo, durante la germinación del arroz propia de tierras húmedas, el coleóptilo traspasa la superficie de agua y genera una ruta de difusión (como «un tubo de respiración») del O_2 para el resto de la planta. (Aunque el arroz silvestre o arroz indio es una especie de tierras encharcadas, sus raíces son tan intolerantes a la anoxia como las de maíz).

A medida que la deficiencia de oxígeno del suelo se va extendiendo por las raíces, la formación del continuo de aerénquima hasta el ápice permite que el oxígeno se mueva desde la raíz y abastezca a la zona apical. En las raíces de arroz y otras plantas de tierras húmedas existen barreras estructurales compuestas por células suberinizadas y lignificadas que previenen la difusión del O_2 hacia el suelo. El O_2 así retenido airea el meristemo apical y permite el crecimiento de 50 cm o más en un suelo anaeróbico.

Por el contrario, las raíces de especies de tierras secas como el maíz son permeables al O_2 y no son capaces de conservarlo del mismo modo. Así, en el ápice radicular de estas plantas de tierras secas, el O_2 interno llega a ser insuficiente para la respiración aeróbica y esto limita gravemente la profundidad a la cual las raíces pueden extenderse en un suelo anaeróbico.

La mayoría de los tejidos vegetales no pueden tolerar las condiciones anaeróbicas

La mayoría de los tejidos de las plantas superiores no pueden sobrevivir en ambientes anaeróbicos durante mucho tiempo. Los ápices de las raíces de maíz, por ejemplo, son viables entre 20-24 h si repentinamente son privados de O_2. En anoxia, se genera lentamente algo de ATP por fermentación y el nivel energético de las células

La capacidad de las plantas para enfrentarse a entornos desfavorables se conoce como resistencia al estrés. Las adaptaciones vegetales que confieren resistencia al estrés, como el metabolismo CAM, están determinadas genéticamente. La aclimatación mejora la resistencia como resultado de una exposición previa de una planta al estrés.

Los mecanismos de resistencia a la sequía varían con el clima y las condiciones del suelo. Los patrones de crecimiento indeterminado como el del sorgo y la soja permiten a estas especies obtener ventajas de las lluvias tardías; plantas con un patrón de crecimiento determinado, como el maíz, carecen de esta resistencia al estrés hídrico. La inhibición de la expansión de la hoja es la primera respuesta al estrés hídrico, produciéndose cuando la disminución de la turgencia que resulta del déficit hídrico reduce o elimina la fuerza que dirige la expansión celular y foliar. Otros mecanismos adicionales de resistencia en respuesta al estrés hídrico son la abscisión de la hoja, la extensión radicular a las zonas más profundas y el cierre estomático.

El estrés causado por el déficit hídrico conduce a la expresión de conjuntos de genes implicados en la aclimatación y la adaptación al estrés. Estos genes median respuestas celulares y de toda la planta. La percepción y activación de las cascadas de transducción de señal que median estos cambios en la expresión génica implican una ruta dependiente de ABA y otra independiente de ABA.

El estrés térmico y el choque térmico están causados por altas temperaturas. Las especies CAM pueden tolerar temperaturas de 60 a 65 °C, pero la mayoría de las hojas resultan dañadas a unos 45 °C. La temperatura a la que las hojas transpiran activamente suele ser inferior a la temperatura del aire, aunque el déficit hídrico restringe la transpiración y provoca un recalentamiento y el estrés térmico. El estrés por calor inhibe la fotosíntesis y altera el funcionamiento de la membrana y la estabilidad de las proteínas.

Las adaptaciones que confieren resistencia al calor incluyen respuestas que reducen la absorción de luz por las hojas, como el enrollamiento de éstas, y una disminución del tamaño de la hoja que minimiza la resistencia de la capa de aire estacionaria y aumenta la pérdida de calor por convección. Las proteínas de choque térmico que se sintetizan a altas temperaturas actúan como chaperonas moleculares que promueven la estabilización y el correcto plegamiento de las proteínas celulares y las respuestas bioquímicas que conducen a la homeostasis metabólica y de pH también están asociadas con la aclimatación y adaptación a los aumentos bruscos de la temperatura.

El estrés por enfriamiento y congelación es consecuencia de las bajas temperaturas. El daño por frío se produce a temperaturas que son demasiado bajas como para que tenga lugar un crecimiento normal, pero están por encima de la temperatura de congelación, y es típico de especies de origen tropical o subtropical expuestas a climas templados. Los daños por frío incluyen un crecimiento lento, lesiones foliares y marchitamiento. La principal causa de la mayoría de los daños por frío es la pérdida de las propiedades de la membrana que resultan de los cambios en la fluidez de ésta. Los lípidos de la membrana de las plantas resistentes al frío suelen tener una mayor proporción de ácidos grasos insaturados que los de las plantas sensibles al frío.

El daño por congelación está principalmente asociado con el daño causado por los cristales de hielo formados en las células y los órganos. Las especies resistentes a la congelación tienen mecanismos que limitan el crecimiento de los cristales de hielo en los espacios extracelulares. Los mecanismos que confieren resistencia a la congelación típicos de las plantas leñosas son la deshidratación y el superenfriamiento.

El estrés por frío reduce la actividad hídrica y conduce a un estrés osmótico de las células. Este efecto del estrés osmótico provoca la activación de determinadas rutas de señalización y la acumulación de proteínas implicadas en la aclimatación al frío. También se activan otros genes específicos del frío, pero no relacionados con el estrés osmótico. Las plantas transgénicas que sobreexpresan componentes de la ruta de señalización activada por el estrés por frío demuestran una mayor tolerancia a éste.

El estrés salino resulta de la acumulación de sales en el suelo. Algunas especies de halofitas son altamente tolerantes a las sales, pero la salinidad reduce el crecimiento y la fotosíntesis en las especies sensibles. El daño por la sal se debe a un descenso del potencial hídrico del suelo, que provoca que el agua del suelo esté menos disponible, y a la toxicidad de iones específicos acumulados a concentraciones perjudiciales. Las plantas evitan estos daños excluyendo el exceso de iones de las hojas o por compartimentalización de los iones en vacuolas. Se han identificado algunos de los determinantes moleculares de la exclusión del Na^+ y de su transporte a las vacuolas y se ha establecido una ruta de señalización, la ruta SOS, que regula la expresión de estos genes implicados en la homeostasis iónica.

La deficiencia de oxígeno es típica de suelos encharcados o inundados. La falta de oxígeno reduce el crecimiento y la supervivencia de muchas especies. Por otro lado, las plantas de ciénagas y pantanos y cultivos como el arroz, están bien adaptadas a resistir la falta de oxígeno en el entorno radicular. La mayoría de los tejidos de las plantas superiores no pueden sobrevivir anaeróbicamente, pero otros, como los embriones y los coleóptilos de arroz, pueden sobrevivir durante semanas en condiciones de anoxia. Aún no se han descubierto las rutas metabólicas de la resistencia al daño por anoxia y su regulación.

MATERIAL WEB

TEMAS WEB

25.1 La conductancia estomática y los rendimientos de cultivos irrigados

La conductancia estomática predice los rendimientos de cultivos irrigados que crecen en ambientes cálidos.

25.2 Los lípidos de membrana y las bajas temperaturas
Los enzimas implicados en el metabolismo de lípidos en plantas mutantes y transgénicas imitan los efectos de la aclimatación a bajas temperaturas.

25.3 La formación de hielo en las células de las plantas superiores
Se libera calor cuando se forma hielo en los espacios intercelulares.

25.4 Señalización por Ca^{2+} y activación de la ruta de señalización sensible a las sales (SOS)
Tres *loci* relacionados genéticamente controlan la homeostasis iónica y la tolerancia salina.

25.5 El transporte de Na^+ a través de la membrana plasmática y de la compartimentalización vacuolar
SOS1 es un transportador antiporte Na^+/H^+ que controla los flujos de Na^+ a través de la membrana plasmática.

25.6 Transferencia génica y tolerancia al estrés
Las plantas transgénicas son herramientas valiosas para el estudio de la tolerancia al estrés.

ENSAYO WEB

25.1 El efecto de la polución atmosférica en las plantas
Los gases contaminantes inhiben la conductancia estomática, la fotosíntesis y el crecimiento.

REFERENCIAS DEL CAPÍTULO

Apse, M. P., Aharon G. S., Snedden W. A. y Blumwald E. (1999) Salt tolerance conferred by over expression of vacuolar Na^+/H^+ antiport in *Arabidopsis*. *Science* 285: 1256–1258.

Becwar M. R., Rajashekar C., Bristow K. J. H. y Burke M. J. (1981) Deep undercooling of tissue water and winter hardiness limitations in timberline flora. *Plant Physiol.* 68: 111–114.

Binzel M. L., Hess F. D., Bressan R. A. y Hasegawa P. M. (1988) Intracellular compartmentation of ions in salt adapted tobacco cells. *Plant Physiol.* 86: 607–614.

Björkman O., Badger M. R. y Armond P. A. (1980) Response and adaptation of photosynthesis to high temperatures. En *Adaptation of Plants to Water and High Temperatures Stress*, N. C. Turner y P. J. Kramer, eds., Wiley, New York, págs. 233–249.

Acilo Relativo al residuo de ácido graso ligado a otro compuesto, a menudo el glicerol (como por ejemplo el triacilglicerol).

Acil-ACP Una cadena de ácido graso unida a la proteína ACP.

Aclimatación Incremento de la tolerancia al estrés por exposición previa al estrés. Puede implicar la expresión de genes. Compárese con adaptación.

Acoplamiento Proceso por el cual una reacción química que libera energía libre está ligada a una reacción que requiere energía libre.

Acropétalo Desde la base al ápice de un órgano, como un tallo, una raíz o una hoja.

Activadores génicos Proteínas que aumentan la expresión génica, bien actuando solas o bien actuando junto a otras proteínas. *Véase* factores de transcripción.

Actividad del sumidero La tasa de incorporación de fotoasimilados por unidad de peso de un tejido sumidero.

Acuaporinas Proteínas integrales de membrana que forman canales selectivos a través de las membranas. Esos canales facilitan el movimiento del agua a través de las membranas.

Adaptación (al estrés) Un nivel de resistencia al estrés adquirido por selección durante muchas generaciones. Compárese con aclimatación.

Adenosina-5'-fosfosulfato (APS) Forma activa derivada del sulfato, con un tiempo de vida corto, que se forma por la reacción entre el sulfato y el ATP. Es el primer producto de reacción en varias rutas desde el sulfato hasta el aminoácido cisteína. *Véase* 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato y tiosulfonato.

Aerénquima Característica anatómica de las raíces que aparece en condiciones de hipoxia y que muestra grandes espacios intercelulares en el córtex de la raíz llenos de gas.

Ajuste osmótico La capacidad de una célula de acumular solutos compatibles y reducir el potencial osmótico durante períodos de estrés osmótico.

Alcaloides Una gran familia de metabolitos secundarios que contienen nitrógeno y que se encuentran en muchas plantas vasculares. Defienden a las plantas frente a predadores, especialmente mamíferos. Incluyen toxinas como morfina, codeína, atropina y efedrina. Otros son estimulantes y sedantes (por ejemplo: cocaína, nicotina y cafeína).

Alcohol deshidrogenasa (ADH) Enzima que cataliza la conversión de acetaldehído a etanol.

Aldehído de la GA_{12} Producto final de la segunda etapa de la biosíntesis de las giberelinas y precursor de todas las otras giberelinas.

Alelopatía Liberación de sustancias al medio ambiente con efectos dañinos para las plantas de alrededor.

Alternativa a la hexosa monofosfato *Véase* ruta de las pentosas fosfato.

Ambifotoperiódico Relativo a plantas que florecen con días cortos o largos, pero no en días de duración intermedia.

Amida Compuesto que contiene nitrógeno y que está formado por la reacción de una amina y un ácido carboxílico para formar un grupo $-CONR_2$.

Amina Compuesto que contiene nitrógeno y que deriva del amonio por sustitución de hidrógenos por grupos que contienen nitrógeno.

Aminotransferasas Enzimas que catalizan las reacciones de transaminación.

Amplitud En un ritmo biológico, la distancia entre un pico y un valle. A menudo su valor puede variar, mientras que el período permanece invariable.

Análisis por transferencia de RNA (northern blot) Un método para detectar y cuantificar RNAs específicos (procedentes de una electroforesis, son transferidos a un papel de nitrocelulosa o a una membrana de nailon) por hibridación con hebras complementarias de RNA o DNA.

Anaplerótica Cualidad de una reacción para proporcionar reactivos que son limitantes en otras rutas de reacción. Por ejemplo, la reacción de la PEP carboxilasa proporciona oxalacetato para el ciclo del ácido cítrico cuando éste se ha consumido en la biosíntesis.

Anastomosis Intercomunicaciones vasculares que constituyen vías de comunicación entre tejidos fuente y sumidero que no están directamente comunicados.

Anatomía tipo Kranz (del alemán *kranz*, corona o halo) Ordenación radial de las células del mesofilo alrededor de una capa de grandes células de la vaina del haz. Las dos capas concéntricas de tejido fotosintético rodean los haces vasculares. Esta característica anatómica es típica de las hojas de las plantas C_4.

Ancimidol (A-Rest) Inhibidor comercial de la biosíntesis de las giberelinas. De modo similar al paclobutrazol, el ancimidol bloquea la reacción de oxidación entre el kaureno y el ácido kaurenoico en el retículo endoplásmico.

Anfipático En una molécula, la cualidad de tener regiones hidrofóbicas e hidrofílicas.

Angiospermas Plantas con flores que se distinguen de las gimnospermas por la presencia de un carpelo que encierra a las semillas.

Anillado Eliminación de un anillo de la corteza de un tallo leñoso que interrumpe el sistema vascular.

Anillo heterocíclico Una estructura en anillo que contiene átomos de carbono y otros átomos diferentes (nitrógeno u oxígeno).

Anisotrópico Característica de ciertos materiales que muestran propiedades mecánicas diferentes en distintas direcciones. Normalmente es debido a inclinaciones en la orientación o en la unión de las moléculas que lo constituyen. Compárese con isotrópico.

Anóxico Relativo a la ausencia de oxígeno. Compárese con hipóxico.

Anoxigénico Organismo fotosintético que no produce oxígeno molecular.

Antera La estructura apical de los estambres en la que se forma el polen y desde la que también se libera.

Anticlinal Relativo a la orientación de una lámina de células que forman ángulos rectos respecto a los ejes longitudinales durante la citocinesis. Transversal.

Antiflorígeno Hormona hipotética producida por hojas no inducidas y transportada a los meristemos de los ápices caulinares. Se supone que inhibe la formación de flores en ciertas plantas de fotoperíodo largo en condiciones no inductivas.

Atenuación El proceso por el que la energía almacenada en las clorofilas excitadas por la luz se disipa rápidamente, principalmente por la transferencia de excitación o fotoquímica.

Atenuación no fotoquímica La atenuación de la fluorescencia de la clorofila por procesos diferentes al fotoquímico (conversión del exceso de excitación en calor).

ATI *Véase* inhibidor del transporte de auxinas.

ATP sintasa (ATPasa o CF_o-CF_1) Enzima que sintetiza ATP a partir de ADP y fosfato (P). Consta de dos partes: una fracción hidrofóbica unida a la membrana (CF_0) y una fracción que sobresale dentro del estroma (CF_1).

Autocatálisis La capacidad del ciclo de Calvin de emplear la mayor parte del carbono fijado (triosas fosfato) para aumentar las concentraciones de los intermediarios y funcionar adecuadamente en estado estacionario. En consecuencia, la concentración del aceptor (ribulosa-1,5-bisfosfato) se duplica cada cinco vueltas del ciclo.

Autocatalítico Relacionado con el proceso que transcurre espontáneamente cuando los componentes purificados de un sistema se mezclan *in vitro*, sin necesidad de añadir proteínas adicionales o cofactores.

Autocatalítico Una acción o reacción que promueve la acción o reacción. Por ejemplo, la producción de etileno por el fruto es estimulada por etileno.

Autoensamblaje Tendencia de las moléculas grandes de agregarse espontáneamente en estructuras organizadas en determinadas condiciones.

Autorradiografía Técnica empleada para determinar la localización de un isótopo radiactivo que previamente ha sido aportado a células vivas, utilizando una película autorradiográfica (localización global) o una emulsión autorradiográfica (localización celular precisa).

Autótrofos Células u organismos que sintetizan los componentes celulares a partir de los elementos estructurales que se encuentran en los estados más oxidados (por ejemplo, carbohidratos a partir de CO_2). Como la reacción de reducción normalmente es endotérmica, la energía necesaria procede de la luz del sol (fototrofos) o de la energía química (quimiotrofos).

Auxina Compuesto con actividades biológicas similares, pero no necesariamente idénticas, a las del IAA. Induce la elongación celular en coleóptilos aislados y en secciones de tallo, la división celular en tejidos callosos en presencia de una citoquinina, la formación de raíces laterales en las superficies cortadas de los tallos, partenocarpia en los frutos y la formación del etileno.

Auxina sintética Sustancia con actividad auxínica que no es producida por las plantas, por ejemplo, el 2,4-D y el dicamba. Con frecuencia se emplean como herbicidas porque no son degradadas por las plantas tan rápidamente como el IAA.

AVG Aminoetoxivinilglicina, un inhibidor de la biosíntesis del etileno que bloquea la conversión de SAM en ACC.

Axila La unión en ángulo que forma el lado superior de la hoja y el tallo al cual está anclada. Normalmente es el sitio de inserción de la yema axilar.

Azúcar no reductor Un azúcar en el que el grupo aldehído o cetona está reducido a alcohol o combinado con un grupo similar de otro azúcar, como por ejemplo, en la sacarosa. Menos reactivo que un azúcar reductor.

Azúcar reductor Un azúcar con un grupo aldehído o cetona disponible para la oxidación, por ejemplo, la glucosa y la fructosa.

β-oxidación *Véase* beta-(β)-oxidación.

Bacterias acetogénicas Microorganismos anaerobios obligados que emplean CO_2 y H_2 como aceptor y dador de electrones, respectivamente, en la respiración anaeróbica para la producción de acetil CoA. Los productos posteriores sirven como sillares para los procesos de biosíntesis y el exceso se excreta como acetato.

Bacterias metanogénicas Microorganismo anaerobio obligado que emplea el CO_2 y el H_2 como aceptor y dador de electrones, respectivamente, en la respiración anaeróbica para la producción de metano.

Bacterioclorofila Pigmento activo que absorbe la luz en la fotosíntesis de organismos fotosintéticos anoxigénicos.

Bacteroides Orgánulos fijadores de nitrógeno, resultado de la endosimbiosis de unas bacterias ante una señal desde la planta huésped.

Banda de Caspary Franja de las paredes celulares de la endodermis que está impregnada por una sustancia hidrofóbica similar a la cera llamada suberina. Impide que el agua y los solutos que entran desde el xilema se muevan entre las células endodérmicas.

Banda preprofásica Ordenamiento circular de microtúbulos y microfilamentos que se forma en el citoplasma cortical justo antes de la división celular; que encierra el núcleo y establece el plano en el que se producirá la citocinesis en la mitosis posterior.

Basal Relativo a la base. Uno de los extremos distintivos de un eje. Lo contrario de apical.

Basipétalo Crecimiento desde el ápice del tallo o la raíz hacia la base (unión de la raíz y el tallo).

Beta-(β)-oxidación Oxidación de los ácidos grasos en acil CoA y ruptura secuencial de los ácidos grasos en un número par de moléculas de acetil CoA. También se produce NADH y $FADH_2$.

Bianual Planta que necesita dos estaciones para florecer y producir semillas.

Bicapa lipídica Base de las membranas celulares formada por dos capas de moléculas de fosfolípidos enfrentadas entre sí por sus colas apolares.

Bioensayo Cuantificación de una sustancia con actividad biológica conocida o supuesta midiendo su efecto sobre un material vivo.

Biótico Relativo a lo que está vivo.

Blanqueado Pérdida de la absorbancia característica de la clorofila debida a su conversión en otro estado estructural, con frecuencia por oxidación.

Cambium vascular Meristemo lateral que consta de células madre fusiformes, que genera los elementos del xilema y del floema secundario, así como el parénquima radiomedular.

Canales Proteínas transmembrana que funcionan como poros selectivos para el transporte pasivo de iones a través de la membrana.

Canales tipo R Un tipo de canal aniónico que se abre o cierra rápidamente en respuesta a un cambio de voltaje.

Canales tipo S Un tipo de canal aniónico que permanece abierto mientras dura un estímulo.

Canalización de la luz En las células fotosintéticas, la propagación de parte de la luz incidente a través de la gran vacuola central de las células en empalizada y a través de los espacios aéreos entre las células.

Canavanina Aminoácido no proteico tóxico que es un análogo del aminoácido proteico arginina.

Capa de abscisión Localizada en la zona de abscisión, es una capa de células específicas, con paredes celulares debilitadas que permiten la separación, normalmente de un fruto o una hoja.

Capa de aire estacionaria Fina película de aire en la superficie de la hoja. Su resistencia a la difusión del vapor de agua es proporcional a su grosor.

Capacidad de campo El contenido en agua de un suelo después de saturarse con agua y de dejar que el exceso de agua drene. Da idea de la capacidad de los suelos de mantener la humedad.

Capas histogénicas Regiones productoras de tejidos del meristemo apical caulinar: las capas de la túnica y del corpus.

Capilaridad Movimiento de subida de agua a corta distancia en un tubo capilar o en una pared celular, debido a la cohesión, adhesión o tensión superficial del agua.

Carbono fijado *Véase* fotoasimilados.

Carboxilación La reacción en la que una carboxilasa cataliza la formación de un enlace carbono-carbono entre el CO_2 y un átomo de carbono de una molécula orgánica.

Cardenólidos Esteroides glicosilados con sabor amargo y extremadamente tóxicos para los animales superiores por su acción sobre las ATPasas de Na^+/K^+. Se extraen de *Digitalis* para el tratamiento de desórdenes coronarios.

Carga del elemento criboso Movimiento de los azúcares a los elementos cribosos y células de compañía de las hojas fuente, donde llegan a estar más concentrados que en el mesofilo.

Carga del floema Movimiento de fotoasimilados desde los cloroplastos del mesofilo a los elementos de los tubos cribosos de las hojas maduras. Incluye las etapas de transporte a corta distancia y la carga del elemento criboso. *Véase también* descarga del floema.

Carga del xilema El proceso por el que los iones salen del simplasto y entran en las células conductoras del xilema.

Ciclo reductor de las pentosas fosfato (RPP) *Véase* ciclo de Calvin.

Cierre estomático hidroactivo Cierre de los estomas en respuesta a una señal como el estrés hídrico. Depende de los procesos metabólicos que reducen el contenido de solutos de la célula guarda como consecuencia de la pérdida de agua. Es el mecanismo contrario al de la apertura estomática.

Cierre estomático hidropasivo Cierre de los estomas debido a la pérdida directa de agua de las células guarda, con la consiguiente pérdida de turgencia de la célula. Actúa ante una humedad externa muy baja, cuando el agua que se pierde no se compensa rápidamente.

Cinemáticas Conceptos y métodos numéricos aplicables al movimiento de partículas en fluidos y a los cambios de forma que sufren los fluidos. Útil en el análisis del crecimiento meristemático.

Citocalasina B Droga que destruye los filamentos de actina.

Citocromo *c* Componente proteico móvil de la cadena de transporte electrónico que oxida al complejo III y reduce al complejo IV.

Citoplasma Componente celular limitado por la membrana plasmática que, excluyendo el núcleo, contiene el citosol, los ribosomas y el citoesqueleto y que, en eucariotas, rodea los orgánulos membranosos intracelulares (cloroplastos, mitocondrias, retículo endoplásmico, etc.).

Citoplasma cortical Región más externa o capa de citoplasma adyacente a la membrana plasmática.

Citocinesis En las células vegetales, tras la división nuclear, la separación de los núcleos de las células hijas por formación de una nueva pared celular.

Citoquininas Hormonas con numerosos efectos sobre el desarrollo vegetal, entre los que se encuentra la senescencia de la hoja, la movilización de nutrientes, la dominancia apical, la formación y actividad de los meristemos apicales caulinares, el desarrollo floral, la pérdida de la dormición de la semilla y la germinación de la semilla. Las citoquininas median muchos procesos regulados por la luz, como el desarrollo de los cloroplastos y el metabolismo y la expansión de hojas y cotiledones. Pueden existir en forma libre o unida. Operativamente se las define como compuestos con actividad biológica similar a la de la *trans*-zeatina.

Citoquinina sintasa Enzima vegetal que transfiere el grupo isopentenilo desde el isopentenildifosfato al AMP para formar el ribótido isopenteniladenina, el primer intermediario de la síntesis de citoquininas. Una isopentenil transferasa.

Citosol Fase coloidal acuosa del citoplasma que contiene solutos disueltos y de la que quedan excluidas las estructuras supramoleculares como los ribosomas y los componentes del citoesqueleto.

Climatérico Relativo al aumento de la respiración que se produce al inicio de la maduración en todos los frutos que maduran en respuesta al etileno y en el proceso de senescencia de las hojas y caída de las flores.

Clorofila Grupo de pigmentos verdes activos que absorben la luz en la fotosíntesis.

Duración crítica de la noche Duración de la noche que se debe sobrepasar para que se produzca la floración en plantas de día corto o la inhibición de la floración en las plantas de día largo. *Véase* duración crítica del día.

Duración crítica del día Mínima duración del día necesaria para la floración de una planta de día largo; la máxima duración del día que permite florecer a las plantas de día corto. No obstante, los estudios han demostrado que es la duración de la noche y no la duración del día, lo que es verdaderamente importante. *Véase* duración crítica de la noche.

Ecuación de Goldman Ecuación que predice el potencial de difusión a través de la membrana en función de las concentraciones y de la permeabilidad de todos los iones que permean a través de la membrana (por ejemplo, K^+, Na^+ y Cl^-).

Ecuación de Nernst Ecuación que predice el potencial eléctrico con el que un ión cargado debe estar en equilibrio a través de una membrana, en función de las concentraciones relativas del ión a cada lado.

Ecuación de van't Hoff Relaciona el potencial de un soluto, Ψ_s, con la concentración del soluto.

Efecto acumulativo Efecto sinérgico (mayor) de la luz del rojo y del rojo lejano en la tasa fotosintética, comparado con la suma de las tasas cuando las dos longitudes de onda son captadas por separado.

Efecto criboso Penetración de la luz fotosintéticamente activa en varias capas de células debido a los espacios que hay entre los cloroplastos y que permiten su paso.

Efecto invernadero Calentamiento del clima de la Tierra debido a la captura de la radiación de longitud de onda larga por el CO_2 y otros gases de la atmósfera. Término que deriva del calentamiento de un invernadero como consecuencia de la penetración de la radiación de longitudes de onda larga a través del cristal del techo, la conversión en calor de esta radiación de ondas largas y la pérdida del calor a través del cristal del techo.

Efectos de toxicidad Daños producidos por las altas concentraciones de iones (sobre todo, Na^+, Cl^- y SO_4^{2-}) que se acumulan en las células a bajos potenciales hídricos.

Eficiencia cuántica Rendimiento cuántico en función decantidad de fotones de luz absorbidos.

EGTA (ácido etilenglicol-bis(β-aminoetiléter)-N,N,N',N'-tetraacético) Compuesto que forma complejos con los iones calcio, impidiendo que éstos sean incorporados por las células e inhibiendo tanto el gravitropismo radical como la distribución asimétrica de las auxinas en respuesta a la gravedad. *Véase* modelo de control central de la membrana plasmática.

Eicosanoides Grupo de sustancias implicadas en las respuestas inflamatorias de los mamíferos y similares al ácido jasmónico encontrado en plantas.

Eje (eje vegetal) Línea central hipotética de un cuerpo alrededor de la cual emergen sus partes. *Véase* eje lineal y eje radical.

Embriogénesis Desarrollo de un zigoto en un embrión multicelular. En plantas, son los procesos de división y diferenciación celular que se producen en el primordio seminal y en la semilla inmadura y que establecen los patrones básicos de desarrollo de la planta adulta: el patrón radial de tejidos, el eje ápice-base y los principales meristemos.

Embrión Planta inmadura formada después de la reproducción sexual o asexual. Se encuentra en semillas (en plantas con semillas) y consta de un eje embrionario que tiene una yema terminal (plúmula), una raíz (radícula) y una o más hojas de la semilla (cotiledones).

Encamado Curvatura de la espiga del cereal hacia el suelo debido al aumento de peso de las partes superiores maduras que recogen la humedad del ambiente. Esta curvatura hace que el cosechado mecánico sea poco efectivo.

Endodermis Capa especializada de células con una banda de Caspary que rodea a los tejidos vasculares en las raíces y algunos tallos.

Endógeno Relacionado con el interior de un sistema vivo. Relativo a lo que se encuentra o se origina en el interior de un sistema.

Endosimbiósis Una teoría que explica el origen evolutivo del cloroplasto y la mitocondria por formación de una relación endosimbiótica entre una células procariota y una célula no fotosintética eucariota, seguida de una intensa transferencia génica al núcleo.

Energía libre Un término termodinámico que representa la capacidad de realizar un trabajo.

Entrenudo Parte del tallo entre dos nudos.

Envoltura El sistema de doble membrana que rodea al cloroplasto o al núcleo. La membrana más externa de la envoltura nuclear es continúa con el retículo endoplásmico.

Epicotilo La región del tallo de la planta que se encuentra por encima de los cotiledones.

Epidermis (células epidérmicas) La capa más externa de células vegetales, normalmente células gruesas.

Epinastia Curvatura hacia abajo de las hojas debida al crecimiento asimétrico del pecíolo. Una respuesta a la producción de etileno durante la inundación.

Equilibrio Para un soluto determinado, un estado o condición en la que no hay gradiente de potencial electroquímico y, por tanto, no hay un transporte pasivo del soluto.

ERE *Véase* elemento de respuesta al etileno.

ERS *Véase* resonancia electrónica de espín.

Escape de la fotorreversibilidad Pérdida de la fotorreversibilidad por la luz del rojo lejano de los sucesos inducidos por la luz del rojo mediados por el fitocromo, después de un breve período de tiempo.

Escape de la sequía Capacidad de una planta de crecer y completar su ciclo vital durante la estación seca, antes del inicio de la sequía.

Estado estacionario Situación en la que la entrada y la salida de un soluto dado entre dos compartimentos separados por una membrana alcanza el equilibrio.

Estado fotoestacionario Respecto al fitocromo, en condiciones luminosas, el equilibrio entre el 97% de Pr y el 3% de Pfr.

Estambre Órgano reproductor masculino de la flor que produce el polen. Consta de un tallo (filamento) y una antera. *Véase* sépalos, pétalos y carpelos.

Estatocitos Células vegetales especializadas que contienen estatolitos.

Estatolitos Inclusiones celulares del tipo amiloplasto que actúan como sensores de la gravedad; por su alta densidad respecto al citosol, sedimentan en la parte inferior de la célula.

Estequiometría Relación cuantitativa entre las cantidades de los reactivos consumidas y los productos generados durante una reacción química.

Esterilidad citoplásmica masculina (*cms*) Característica vegetal provocada por mutaciones en el DNA mitocondrial y por la que no se forma polen viable.

Estigma Superficie que recibe el polen sobre el estilo.

Estilo Extensión del carpelo similar a un tallo. *Véase* carpelos.

Estímulo floral En fotoperiodismo, señales que son transportadas desde las hojas al meristemo apical del tallo. *Véase* florígeno.

Estoma Poro microscópico en la epidermis de la hoja rodeado por un par de células guarda y que en algunas especies también incluye a las células subsidiarias. Los estomas regulan el intercambio gaseoso (agua y CO_2) de las hojas controlando las dimensiones del poro.

Estratificación En algunas plantas, requerimiento de una temperatura fría para la germinación de la semilla. El término deriva de una antigua práctica agrícola en la que se rompía la dormición de la semilla permitiendo que las semillas pasaran el invierno en pequeños montones, en capas en las que se alternaban semillas y tierra.

Estrés Influencia negativa ejercida sobre una planta por factores externos bióticos o abióticos, como una infección o el calor, el agua y la anoxia. Se mide en relación a la supervivencia vegetal, el rendimiento de un cultivo, la acumulación de biomasa y la incorporación de CO_2.

Estrés salino Efectos adversos sobre las plantas debido a un exceso de sales minerales.

Etefón Ácido 2-cloroetilfosfónico, un compuesto que libera etileno, y se emplea en el campo para suministrar esta hormona vegetal. Nombre registrado, Ethrel.

Etileno El etileno ($CH_2{=}CH_2$) es una hormona vegetal gaseosa que se sintetiza a partir del aminoácido metionina a través del ACC. Tiene importantes efectos sobre el crecimiento y desarrollo vegetal, como la estimulación o la inhibición de la elongación de tallos o raíces, dependiendo de las condiciones y las especies, aumenta el desarrollo de los frutos, suprime la floración en la mayoría de las especies, aumenta la abscisión de flores y frutos y aumenta la transcripción del RNA de numerosos genes. *Véase también* triple respuesta al etileno.

Filotaxia verticilada Varias hojas u órganos florales de un determinado tipo que se unen al tallo por el mismo nudo.

Filotaxia en espiral En cada nudo hay una sola hoja, que que está girada 137° respecto a la hoja del nudo anterior.

Filtro de selectividad Dominio de una proteína canal que determina la especificidad del transporte.

Fitoalexinas Grupo de metabolitos secundarios, químicamente muy diverso, con una fuerte actividad antimicrobiana, que se sintetiza tras la infección y que se acumula en el sitio de la infección.

Fitocromo Proteína fotorreceptora que regula el crecimiento vegetal y que absorbe principalmente la luz del rojo y del rojo lejano, pero que también absorbe la luz del azul. La holoproteína que contiene el cromóforo fitocromobilina.

Fitocromobilina Cromóforo tetrapirrólico lineal del fitocromo.

Fitoecdisonas Grupo de esteroides vegetales tóxicos para los insectos debido a su similitud química con la hormona de muda.

Fitoferritina Complejo proteico de hierro que almacena el exceso de hierro de las células vegetales.

Fitohormona *Véase* hormona vegetal.

Fitol Larga cadena hidrocarbonada de la molécula de clorofila, que la ancla a la membrana del tilacoide.

Fitómero Unidad de desarrollo que consta de una o más hojas, el nudo en el que las hojas están ancladas, el entrenudo debajo del nudo y una o más yemas axilares.

Fitosideróforos Una clase especial de quelantes de hierro sintetizados en herbáceas y que están formados por aminoácidos no proteicos.

Flavina adenina dinucleótido (FAD) Cofactor que contiene una riboflavina que sufre una o dos reducciones electrónicas reversibles para producir FADH o $FADH_2$.

Flavina mononucleótido (FMN) Cofactor que contiene una riboflavina que sufre una o dos reducciones electrónicas reversibles para producir FMNH o $FMNH_2$.

Flavonas Grupo de flavonoides protectores que absorben la luz ultravioleta y que pueden actuar como atrayentes de insectos polinizadores en las flores. Son secretadas por las raíces de las leguminosas al suelo junto con los flavonoides y median en la interacción con los simbiontes fijadores del nitrógeno.

Flavonoides Gran grupo de compuestos fenólicos vegetales con una estructura básica de dos anillos aromáticos conectados por tres carbonos. A este grupo pertenecen las antocianinas, las flavonas, los flavonoles y las isoflavonas. Participan en la pigmentación vegetal, en la protección contra la radiación UV y en la defensa frente a herbívoros y patógenos.

Flavonoles Grupo de flavonoides protectores que absorben la luz ultravioleta y que pueden actuar como atrayentes de insectos polinizadores de las flores. Son secretados por las raíces de las leguminosas al suelo y median en la interacción con los simbiontes fijadores del nitrógeno.

Flavoproteína ferredoxina-NADP reductasa (F_p) En el fotosistema II, una flavoproteína asociada a la membrana que reduce al $NADP^+$, empleando los electrones

Gen *NIT* Uno de los genes *(NIT1* a *NIT4)* que codifica el enzima nitrilasa que convierte IAN en IAA.

Gen *SCR* Gen *SCARECROW* (SCR) de *Arabidopsis* que controla la organización del tejido y la diferenciación celular en el embrión, el hipocotilo, las raíces primarias y las raíces secundarias.

Gen *STM* Gen *SHOOTMERISTEMLESS* (STM) de *Arabidopsis*. Suprime la diferenciación celular, asegurando que las células del meristemo caulinar permanezcan sin diferenciarse. Su función es necesaria para la formación del protomeristemo.

Genes *AHPs* Genes de *Arabidopsis* que transfieren fósforo a la histidina y que están implicados en la propagación de la señal de las citoquininas, desde un receptor de la membrana plasmática al núcleo.

Genes ARR *Véase* genes reguladores de la respuesta en *Arabidopsis*.

Genes *Aux/IAA* Familia de los principales genes de respuesta a auxinas que codifican factores de transcripción de vida corta que funcionan como represores o activadores de la expresión de genes tardíos inducibles por auxinas.

Genes *avr* Genes de avirulencia patogénica que codifican elicitores específicos de respuestas de defensa vegetal.

Genes *catastrales* Genes que actúan como reguladores espaciales de los genes de identidad de los órganos florales al establecer límites a su expresión.

Genes de identidad del meristemo Genes necesarios para la inducción inicial de los órganos florales.

Genes de identidad de los órganos florales Genes que controlan directamente el desarrollo floral. Genes para factores de transcripción que probablemente controlan la expresión de otros genes cuyos productos están implicados en la formación y/o función de los órganos florales.

Genes de nodulación (*nod*) Genes de los Rhizobia cuyos productos participan en la formación del nódulo.

Genes de nodulina (*Nod*) Genes vegetales específicos de la formación del nódulo.

Genes de respuesta primaria («genes tempranos») Genes cuya expresión es necesaria en la morfogénesis vegetal y que se expresan rápidamente tras la exposición a una señal luminosa. Con frecuencia están regulados por la activación de factores de transcripción ligados al fitocromo. Genes cuya expresión no necesita de la síntesis de proteínas. *Véase* genes de respuesta secundaria.

Genes de respuesta secundaria («genes tardíos») Genes cuya expresión requiere la síntesis de proteínas y que es posterior a los genes de respuesta primaria.

Genes *GH3* En soja y *Arabidopsis*, familia de genes de respuesta primaria que es estimulada por las auxinas a los 5 minutos del tratamiento.

Genes homeóticos Los genes homeóticos fueron descubiertos en *Drosophila*, donde regulan las localizaciones de las partes del cuerpo en las moscas. Estos factores de transcripción están caracterizados por homeodominios.

Genes homeóticos florales Genes reguladores clave que determinan las posiciones e identidades de los órganos en las flores.

Genes *LUX* Genes bacterianos de la luciferasa, que catalizan la reacción de emisión de la luz. Se emplea como gen marcador en las plantas transgénicas para indicar la visibilidad de la actividad de otro gen con quien comparte el mismo promotor.

Genes N*od* *Véase* genes de nodulina.

Genes *nod* *Véase* genes de nodulación.

Genes *PHY* Genes de las apoproteínas del fitocromo; miembros de la familia génica del fitocromo. En *Arabidopsis* son *PHYA, PHYB, PHYC, PHYD* y *PHYE.*

Genes R Genes de resistencia que funcionan en defensa de la planta frente a hongos, bacterias y nemátodos, codificando, en algunos casos, una proteína que se une a moléculas específicas de los patógenos, los elicitores.

Genes reguladores de la respuesta en *Arabidopsis (ARR)* Genes de *Arabidopsis* que son similares a las proteínas bacterianas de dos componentes llamadas reguladores de respuesta. Hay dos clases: ARR tipo A, cuya transcripción está regulada positivamente por citoquininas; ARR tipo B, cuya expresión no se ve alterada por citoquininas.

Genes *SAG* Genes asociados a la senescencia, su expresión es inducida durante la senescencia.

Genes *SAUR* En soja, un grupo de genes de respuesta primaria estimulados entre 2 y 5 minutos después del tratamiento con auxinas.

Genes tardíos *Véase* genes de respuesta secundaria.

Genes tempranos *Véase* genes de respuesta primaria.

Geranilgeranil difosfato (GGPP) Precursor de la biosíntesis de giberelinas.

Germinación Inicio o recuperación del crecimiento de una espora, una semilla o una yema.

GGPP *Véase* geranilgeranil difosfato.

Giberelina A_1 (GA_1) Forma químicamente diferente de las giberelinas. La principal GA activa en el crecimiento del meristemo en la mayoría de las especies.

Giberelina A_3 (GA_3) Principal giberelina que se encuentra en los cultivos fúngicos: comúnmente disponible y usada en los cultivos de frutales, en la germinación de cebada y en la extensión de la caña de azúcar (para aumentar la producción de azúcar). Raramente se encuentra en plantas.

Giberelina aldehído *Véase* aldehído de la GA_{12}.

Giberelinas (GAs) Un gran grupo de hormonas vegetales, químicamente relacionadas, sintetizadas a partir de la ruta de los terpenos y asociadas con la promoción del crecimiento del tallo (especialmente en plantas enanas y de roseta), germinación de semillas y otras muchas funciones. *Véase* ácido giberélico, giberelina aldehído y giberelina A_1.

Gimnospermas Tipo primitivo de plantas con semillas. Se diferencia de las angiospermas en que las semillas carecen de protección dentro de los conos.

Glicerofosfolípidos (fosfolípidos) Glicerolípidos en los que el grupo polar de la cabeza contiene fosfato. Son los glicerolípidos más importantes en los tejidos no fotosintéticos.

Hifas Pequeños filamentos tubulares de los hongos.

Hiperpolarización Aumento del potencial eléctrico, normalmente negativo en el interior (mV), de la membrana plasmática de una célula.

Hipocotilo Región del tallo de la plántula que crece por debajo de los cotiledones y sobre la raíz.

Hipófisis En la embriogénesis vegetal de la semilla, la progenie más apical de la célula basal que contribuye al embrión y que formará parte del meristemo apical caulinar.

Hipótesis de Bünning Hipótesis en la que el control fotoperiódico de la floración se produce cuando hay coincidencia entre la fase luminosa o de oscuridad de un fotoperíodo inductivo y una fase particular de la oscilación del ritmo circadiano que tiene una sensibilidad diferente a la luz.

Hipótesis de la flavina Sugerencia desacreditada de que una riboflavina activada por la luz del azul podría participar en la fotodegradación, *in vivo*, de la auxina. Aunque la luz del azul puede reducir una flavina como la riboflavina *in vitro* y la flavina reducida puede a su vez reducir el citocromo *c*, estas fotorreacciones no se han podido demostrar *in vivo*.

Hipótesis del almidón–estatolito Mecanismo propuesto para el gravitropismo que implica la sedimentación de los estatolitos en los estatocitos.

Hipótesis del crecimiento ácido La relajación y la expansión de las paredes celulares primarias es inducida por los protones transportados a través de la membrana plasmática.

Hipótesis del reloj Hipótesis actualmente aceptada de cómo miden las plantas la duración de la noche. Este modelo propone que la duración del fotoperíodo depende de un oscilador endógeno de ritmos circadianos. *Véase* hipótesis del reloj de arena.

Hipótesis del reloj de arena Hipótesis de cómo las plantas miden la duración de la noche. Propone que el tiempo se mide por una serie de reacciones bioquímicas unidireccionales que empieza al inicio del período de oscuridad. *Véase* hipótesis del reloj.

Hipóxico Relativo a bajas concentraciones (presiones) de oxígeno. Compárese con anóxico.

HIR (Respuesta de alta irradiancia) Respuesta del fitocromo cuya magnitud es proporcional a la irradiancia (más que a la fluencia). Las HIRs se saturan a fluencias 100 veces mayores que las LFRs y no son fotorreversibles. Las HIRs no obedecen a la ley de la reciprocidad.

Histéresis térmica Fenómeno en el que la transición de líquido a sólido es promovida a una temperatura inferior a la de la transición de sólido a líquido.

Holoproteína Apoproteína unida a una molécula no proteica más pequeña como un cromóforo.

Homeobox Secuencia que codifica un homeodominio (un dominio de unos 60 aminoácidos) en factores de transcripción que se unen a regiones específicas del DNA.

Hongos micorrícicos ectótrofos Cubierta densa del micelio del hongo que rodea las raíces y se extiende al suelo adyacente; algunas hifas pueden penetrar entre las células corticales de la raíz, pero no dentro de ellas.

Hormona Molécula orgánica sintetizada, con frecuencia (pero no siempre) en una localización del organismo y transportada a otra, donde produce efectos drásticos sobre el crecimiento o el desarrollo a concentraciones muy bajas. *Véase* hormona vegetal.

Hormona vegetal Sustancia que influye en el crecimiento y desarrollo de las plantas a muy bajas concentraciones. Las principales clases son el ácido abscísico, las auxinas, los brasinosteroides, las citoquininas, el etileno y las giberelinas.

HSF Factor de transcripción específico que actúa durante la transcripción de las proteínas de choque térmico.

Humedales Tierras que están saturadas de agua de forma regular.

IAA *Véase* ácido 3-indol acético.

IAM *Véase* indol-3-acetamida.

IAN *Véase* indol-3-acetonitrilo.

Importar Movimiento de fotoasimilados desde los órganos fuente a los elementos cribosos.

In vitro Experimentos biológicos llevados a cabo en «un tubo de ensayo» aislado del organismo completo. Compárese con *in vivo*.

In vivo En un organismo vivo entero. Compárese con *in vitro*.

Indol Precursor de la biosíntesis del IAA en una ruta independiente de triptófano.

Indol-3-acetamida (IAM) Intermediario biosintético de la síntesis de IAA en varias bacterias patogénicas, como *Pseudomonas savastanoi* y *Agrobacterium tumefaciens*.

Indol-3-acetonitrilo (IAN) Intermediario en una de las tres rutas biosintéticas para la síntesis del IAA en plantas. El IAN es convertido en IAA por acción de la nitrilasa.

Indol-3-glicerol fosfato Precursor de la biosíntesis del IAA en una ruta independiente de triptófano.

Inducción fotoperiódica Procesos regulados por el fotoperíodo que se producen en las hojas y que dan lugar a la transmisión del estímulo floral al ápice caulinar.

Inducible Capacidad de aumentar la síntesis de una proteína o proteínas en particular en respuesta a una señal externa determinada, como una hormona.

Información posicional En la determinación de la diferenciación celular y de la formación de un tejido parece que es más importante la posición celular, las relaciones y las asociaciones celulares que el linaje celular.

Inhibidores del transporte de auxinas (ATI) Cualquier compuesto que evita el transporte polar de las auxinas, normalmente al impedir la salida de las auxinas desde las células. *Véase* NPA, TIBA y fototropinas.

Inmunocitoquímica Técnica que emplea anticuerpos específicos anclados a moléculas fáciles de identificar para detectar la presencia, y quizás localizar, moléculas con propiedades antigénicas.

Locus *tmr* Las mutaciones en el locus *tmr* del T-DNA producen teratomas con una proliferación anormal de las raíces. *Véase* gen *ipt*.

Locus *tms* Las mutaciones en este locus del T-DNA producen teratomas con una proliferación anormal de los tallos. *Véase* locus *tmr*.

Longitud de onda (λ) Unidad de medida que caracteriza la energía luminosa, es la distancia entre dos crestas sucesivas. En el espectro visible corresponde a un color.

Lumen Cavidad o espacio en un tubo o saco, especialmente el espacio en el interior de las membranas de los tilacoides.

Luz Forma de energía radiante con propiedades de partícula y de onda.

Macronutrientes Minerales obtenidos del suelo y presentes en los tejidos vegetales normalmente a una concentración mayor de 30 μmol g^{-1} de peso seco. Nitrógeno, potasio, calcio, magnesio, fósforo, azufre y silicio.

Magnesio dequelatasa Enzima que elimina el magnesio de la clorofila en su proceso de degradación.

Malteado Primera etapa en la preparación de la malta. Germinación de las semillas de cebada a altas temperaturas para que se produzca la máxima cantidad de enzimas hidrolíticos.

Manchas necróticas Pequeñas zonas de tejido foliar muerto. Por ejemplo, son características de una carencia de fósforo.

Marchitamiento Pérdida de la rigidez de una planta, dando lugar a un estado flácido, debido a que la presión de turgencia se hace cero.

Material Perteneciente a la materia, cantidad y clase de materia en estudio.

Matriz Fase acuosa coloidal delimitada por la membrana mitocondrial interna.

Matriz de la pared celular Consta de hemicelulosas y pectinas, además de una pequeña cantidad de proteínas estructurales.

MCP 1-metilciclopropeno, un potente inhibidor competitivo que se une al etileno.

Mecanismo quimiosmótico Mecanismo por el que el gradiente electroquímico de protones establecido a través de la membrana del tilacoide en respuesta al transporte de electrones entre los fotosistemas II y I se emplea para dirigir las necesidades energéticas de los procesos celulares como la síntesis de ATP. También actúa en la respiración mitocondrial y en la membrana plasmática celular.

Megapascales (MPa) 10^6 Pa.

Membrana de punteadura Capa porosa entre los pares de punteaduras que consta de dos finas paredes primarias y una lámina media.

Membrana externa Membrana exterior de la mitocondria o del cloroplasto.

Membrana interna Membrana más interna de las dos membranas que tienen mitocondrias y cloroplastos.

Meristemo apical caulinar Meristemo del ápice del vástago. Consta de las capas de la túnica, la zona central, la zona periférica y la médula meristemática.

Meristemo de inflorescencia Produce hojas caulinares y meristemos de inflorescencia en las axilas de las hojas, así como brácteas y meristemos florales en las axilas de las brácteas y no produce directamente órganos florales.

Meristemo floral Forma los órganos florales (reproductivos): sépalos, pétalos, estambres y carpelos. Se puede formar directamente a partir de los meristemos vegetativos o indirectamente a partir de los meristemos de inflorescencia.

Meristemo fundamental En los meristemos vegetales, las células que dan lugar a los tejidos corticales y a la médula y, en la raíz y en el hipocotilo producirán la endodermis.

Meristemo intercalar Meristemo localizado cerca de la base, y no del ápice, de un tallo u hoja, en herbáceas.

Meristemos laterales Meristemos secundarios que se encuentran en tallos y raíces de leñosas maduras como cilindros de células meristemáticas. Su actividad aumenta el tallo y la raíz de forma radial. *Véase* cambium vascular y cambium suberógeno.

Meristemos primarios Meristemos que se forman durante la embriogénesis y que se encuentran en el ápice de la raíz y del vástago.

Meristemos secundarios Meristemos que se forman tras la germinación de la semilla e incluyen los meristemos axilares y los meristemos laterales. Su actividad puede ser suprimida por el meristemo primario activo.

Mesofilo Tejido foliar que se encuentra entre la epidermis superior e inferior, y consta de parénquima en empalizada y mesófilo esponjoso.

Mesofilo esponjoso Células del mesofilo de forma muy irregular, localizadas por debajo de las células en empalizada y rodeadas por grandes espacios aéreos.

Metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) Proceso bioquímico para aumentar la concentración de CO_2 en el lugar de carboxilación de la rubisco. Se presenta en la familia de las Crasuláceas (*Crassula, Kalanchoe, Sedum*) y en numerosas familias de angiospermas. En el CAM, la incorporación y la fijación del CO_2 tienen lugar durante la noche y durante el día se produce la descarboxilación y la reducción del CO_2 liberado internamente.

Metabolismo C_3 *Véase* ciclo de Calvin.

Metabolismo C_4 *Véase* ciclo C_4.

Metabolismo fermentativo Metabolismo del piruvato en ausencia de oxígeno, que conduce a la oxidación del NADH, generado en la glicólisis, a NAD^+. *Véase también* fermentación alcohólica y fermentación del ácido láctico.

Metabolitos secundarios (productos secundarios) Compuestos vegetales que no tienen una función directa en el crecimiento y desarrollo vegetal, pero que pueden funcionar como defensa ante herbívoros e infecciones microbianas producidas por patógenos microbianos, para atraer a insectos polinizadores, para que otros animales dispersen las semillas y como agentes de competencia planta-planta.

Metahemoglobinemia Enfermedad humana del hígado causada por el consumo de material vegetal con un alto contenido en nitratos. El hígado reduce el nitrato a nitrito, que se combina con la hemoglobina y bloquea la capacidad de ésta de unir oxígeno.

Micelio Masa de hifas que forma el cuerpo del hongo.

Micorrizas (de las palabras griegas «hongo» y «raíz»). Asociación simbiótica (mutualista) de ciertos hongos con las raíces vegetales. Facilita la incorporación de nutrientes minerales por las raíces.

Micorrizas vesículo-arbusculares Micelio poco denso dentro de la propia raíz que se extiende por el suelo; algunas hifas penetran en células individuales del córtex radical y se extienden a través de las regiones entre las células.

Microfibrilla de celulosa Fina estructura similar a una cinta de longitud indeterminada y ancho variable cuyas cadenas de β-D-glucano están unidas por enlaces 1→4 y fuertemente empaquetadas en haces cristalinos que se alternan con regiones menos organizadas y amorfas. Proporciona integridad estructural a las paredes celulares de las plantas y determina la direccionalidad de la expansión celular.

Microfilamento Componente del citoesqueleto celular formado por actina; está implicado en la movilidad de los orgánulos en las células.

Micronutrientes Minerales obtenidos del suelo y presentes en los tejidos vegetales normalmente a una concentración menor de 3 μmol g^{-1} de peso seco. Cloruro, hierro, boro, manganeso, sodio, cinc, cobre, níquel y molibdeno.

Microtúbulo Componente del citoesqueleto celular formado por tubulina, un componente del huso mitótico, y que participa en la orientación de las microfibrillas de celulosa en la pared celular.

Mineralización Proceso de degradación de compuestos orgánicos por microorganismos del suelo y que liberan los nutrientes minerales de forma que puedan ser asimilados por las plantas.

Modelo ABC Modelo que propone que los genes homeóticos controlan la formación de órganos en las flores. De acuerdo con el modelo, la identidad de los órganos en cada verticilo se determina por una combinación única de la actividad de tres genes de identidad de órganos.

Modelo combinatorio Modelo para maíz que propone que durante la transición desde el estado juvenil al adulto del vástago, se producen una serie de programas solapados y regulados independientemente (juvenil, adulto y reproductivo) que modulan la expresión de un conjunto de procesos de desarrollo.

Modelo de Cholodny-Went Uno de los primeros mecanismos propuesto para explicar los tropismos, que implica que la luz, la gravedad o el contacto estimula el crecimiento curvado del eje vegetal por un transporte lateral de auxinas. El modelo original se ha visto apoyado por recientes evidencias experimentales.

Modelo de control central del plasmalema (Modelo PCC) Mecanismo propuesto para el gravitropismo en el que canales de calcio de la membrana plasmática se abren en respuesta a los cambios inducidos por la gravedad en la distribución de las fuerzas ejercidas por el protoplasto, el citoesqueleto o la pared celular. Compárese con hipótesis del almidón-estatolito.

Modelo de flujo de presión Modelo ampliamente aceptado del transporte por el floema en las angiospermas. Establece que el transporte en los elementos cribosos está dirigido por un gradiente de presión entre una fuente y un sumidero. El gradiente de presión se genera osmóticamente y resulta de la carga en la fuente y la descarga en el sumidero.

Modelo de la inhibición directa Hipótesis para la *dominancia apical* que establece que el crecimiento de las yemas laterales está inhibido de forma directa por una concentración relativamente alta de auxinas en el vástago, producida por el ápice caulinar.

Modelo de trampa de polímeros Modelo que explica la acumulación específica de azúcares en los elementos cribosos de las especies de carga simplástica.

Monocotiledónea Una de las dos clases de plantas con flores que se caracteriza por tener una única hoja (cotiledón) en la semilla del embrión. Compárese con dicotiledónea.

Monoica Se refiere a las plantas cuyas flores masculinas y femeninas se encuentran en el mismo individuo, por ejemplo, en pepino (*Cucumis sativus*) y en maíz (*Zea mays*). Compárese con dioica.

Monooxigenasas Grupo de enzimas oxigenasas que incorporan sólo uno de los dos átomos de oxígeno del O_2 a un compuesto carbonado; el otro átomo de oxígeno es reducido por el agua utilizando NADH o NADPH como dador de electrones.

Monoterpenos Terpenos que tienen diez carbonos, a partir de dos unidades de isopreno de cinco carbonos.

Motores moleculares Grandes complejos proteicos asociados con los microtúbulos que mueven los flagelos, las vesículas, los cromosomas y el complejo celulosa sintasa.

Movimientos estomáticos Apertura y cierre de los estomas debido a los cambios en la presión de turgencia de las células guarda.

Muerte celular programada (PCD) Proceso por el que células individuales activan un programa de senescencia intrínseco que va acompañado de un conjunto de cambios morfológicos y bioquímicos denominado apoptosis.

Mutaciones homeóticas En *Drosophila*, las mutaciones homeóticas en los genes homeobox tienen como consecuencia la formación de segmentos del cuerpo y otras estructuras en localizaciones inapropiadas. En las plantas, se han encontrado mutaciones con un efecto fenotípico similar, aunque no están implicados los genes homeobox.

Mutante *axr1* Mutante de *Arabidopsis* insensible a las auxinas que carece de nuchas respuestas a las auxinas, entre ellas, el gravitropismo.

Mutante *cry1* Mutante de *Arabidopsis* que no presenta inhibición de la elongación del hipocotilo estimulada por la luz del azul.

Mutante *cry*^{s} *Véase* mutante *la*.

Mutante *ctr1* En *Arabidopsis*, mutación recesiva que provoca la expresión constitutiva de la triple respuesta al etileno (*constitutive triple response* 1 = triple respuesta en ausencia de etileno).

Mutante *d8* En maíz, mutante enano que, fenotípicamente, es insensible a la GA exógena.

Mutante *elf3* En *Arabidopsis*, mutante que florece muy pronto (floración precoz).

Mutante *emf* En *Arabidopsis*, mutante de *FLORACIÓN EMBRIONARIA (*EMF*)* que produce flores muy pronto después de la germinación; el meristemo apical caulinar inicia estructuras no vegetativas, aunque inmediatamente inicia órganos florales durante la germinación.

Mutante *etr1* En *Arabidopsis*, mutación dominante que bloquea la respuesta al etileno (*r*esistente al *et*ileno 1).

Mutante hy4 *Véase* mutante *cry1*.

Mutante *la* Se produce en guisantes junto con la mutación *cry*^{s}. Da lugar a un mutante super alto de respuesta constitutiva como consecuencia de la pérdida de la función de un regulador negativo. *Véase también* mutante *cry*^{s}.

Mutante *le* En guisante, alelo mutante recesivo que genera un fenotipo enano por interferir en la síntesis de las giberelinas activas. Gen enano de Mendel.

Mutante *na* En guisante, alelo mutante recesivo que produce un fenotipo enano extremo al bloquear completamente la biosíntesis de giberelinas, ya que no se sintetiza el aldehído de la GA_{12}.

Mutante *nph1* Mutante de *Arabidopsis* (hipocotilo no fototrópico) del hipocotilo dependiente de la luz del azul en el que el fototropismo está bloqueado. Tampoco responde a la fosforilación estimulada por la luz del azul. El mutante *nph1* es genéticamente independiente del mutante *hy4* (*cry1*). Recientemente se le ha renombrado como *phot*1, para la *fototropina* 1.

Mutante *npq1* Mutante de *Arabidopsis* (atenuación no fotoquímica) que tiene un defecto en el enzima que convierte la violaxantina en zeaxantina. Carece de la respuesta específica de los estomas a la luz del azul.

Mutante *orp* En maíz, mutante que inactiva el enzima de la última etapa de la biosíntesis del triptófano. Impide la conversión de triptófano en IAA. Se llama así porque el mutante de maíz tiene el *pericarpo naranja* (del inglés, *orange pericarp*).

Mutante *pin1-1* Mutante de *Arabidopsis* con flores similares a las de las plantas tratadas con inhibidores del transporte de auxinas. El transporte polar de auxinas no funciona correctamente en la inflorescencia. Es útil en estudios sobre el papel del transporte polar de las auxinas en el desarrollo floral.

Mutante *pro* En tomate, un mutante super alto con respuesta constitutiva como consecuencia de la pérdida de una función de un regulador negativo.

Mutante *rcn1* Mutante de *Arabidopsis* (raíces rizadas en NPA) que muestra una gran sensibilidad al NPA, inhibidor de la elongación del hipocotilo y de la salida de auxinas. El gen *RCN1* está íntimamente relacionado con la subunidad reguladora de la proteína fosfatasa 2A, una serina/treonina fosfatasa.

Mutante *scr* Mutante de *Arabidopsis* en el que el hipocotilo y la inflorescencia no presentan gravitropismo y carecen tanto de endodermis como de vaina de almidón.

Mutante *sln* En guisante, mutante que tiene niveles anormalmente altos de la GA_{20} en las semillas debido al desajuste de la etapa de hidroxilación en la desactivación de la GA. En cebada, da lugar a un mutante super alto como consecuencia de un alelo recesivo que anula un factor de transducción de señal negativo.

Mutante *spy* En *Arabidopsis*, mutante super alto de respuesta constitutiva que se genera por pérdida de la función de un regulador negativo.

Mutante *tir3* Un mutante de *Arabidopsis* (*t*nhibidor de la *r*espuesta de *t*ransporte) que tiene un transporte polar de auxinas reducido y que une NPA. El mutante *tir3* contiene una mutación en la proteína BIG, una proteína similar a la calosina, de la que también tiene defectos el mutante *doc1*.

Mutantes agravitrópicos Mutantes que no responden a la gravedad. Son útiles para la compresión de los mecanismos gravitrópicos.

Mutantes *alf* Mutantes de *Arabidopsis* (mutantes de formación de raíces laterales aberrantes) que tienen alterada la función de las auxinas durante la formación de raíces.

Mutantes *ap2* En *Arabidopsis*, las mutaciones de los genes homeóticos *APETALA2* (*AP2*) producen flores con carpelos en lugar de sépalos y estambres en lugar de pétalos.

Mutantes de respuesta constitutiva al etileno Mutantes que muestran la triple respuesta al etileno en ausencia de etileno exógeno. *Véase* mutante *ctr1*.

Mutantes *ein* En *Arabidopsis*, mutantes que tienen bloqueada sus respuestas al etileno (*in*sensibles al *e*tileno).

Mutantes *GA1* En *Arabidopsis*, mutantes deficientes en las giberelinas biológicamente activas.

Mutantes *hy* Mutantes de *Arabidopsis* en los que la luz blanca no inhibe el crecimiento del hipocotilo como en el tipo silvestre. Los mutantes *hy* no pueden sintetizar fitocromo.

Mutantes insensibles al etileno Mutantes que no esponden al etileno. En *Arabidopsis* plántulas altas que sobresalen por encima de las plántulas silvestres mostrando la triple respuesta cuando crecen en ausencia de etileno.

Mutualismo Relación simbiótica en la que los dos organismos se benefician.

NPA (Ácido 1-N-naftilftalámico) Inhibidor no competitivo de las proteínas transportadoras del flujo aniónico de auxinas que bloquea el transporte polar de las auxinas.

Necrosis Tipo de muerte celular.

Néctar Fluido azucarado producido en glándulas especializadas de algunas flores para atraer a los insectos polinizadores. Algunas veces contiene aminoácidos y otras sustancias nitrogenadas.

Neoplasma *Véase* tumor.

Nictinastia Movimientos nocturnos de las hojas. Las hojas se extienden horizontalmente de cara a la luz durante el día y se pliegan verticalmente durante la noche.

Nitrato reductasa Enzima que reduce el nitrato (NO_3^-) a nitrito (NO_2^-). Cataliza la primera etapa en la que el nitrato absorbido por las raíces es asimilado en la forma orgánica.

Ortóstico Conjunto de hojas insertadas en el tallo directamente por encima o por debajo de otra.

Oscilador endógeno (o circadiano) Marcador molecular interno que mantiene los ritmos circadianos en un entorno de luz o de oscuridad constante.

Osmolalidad Unidad de concentración expresada en moles totales de soluto por litro de agua [mol L^{-1}].

Osmorregulación Control del potencial osmótico de una célula u organismo.

Ósmosis Movimiento de agua a través de una membrana selectivamente permeable hacia la región de potencial hídrico más negativo, Ψ_w (menor concentración de agua).

OxIAA (Ácido oxindol-3-acético) Producto final de la degradación oxidativa del IAA.

Oxidación de la glicina Parte del ciclo fotorrespiratorio del carbono en la que la glicina es convertida a serina en la matriz mitocondrial, produciendo NADH, CO_2 y NH_4^+.

Oxidación Reacción química por la que los electrones o átomos de hidrógeno son eliminados de una sustancia.

Oxidasa alternativa Enzima específica de la cadena de transporte electrónico de las mitocondrias de plantas y hongos que reduce el oxígeno a agua.

Oxidasas de función mixta *Véase* monooxigenasas.

Oxigenación Reacción catalizada por la oxigenasa en la que el carbono de una molécula orgánica se une a los átomos de oxígeno de la molécula de O_2.

Oxigenasas Grupo de enzimas que añaden oxígeno directamente del O_2 a los compuestos orgánicos. *Véase* monooxigenasas y dioxigenasas.

Oxígeno singlete ($^1O_2^*$) Forma del oxígeno extremadamente reactiva y dañina, formada por la reacción de la clorofila excitada con el oxígeno molecular. Provoca daños en los componentes celulares, sobre todo, en los lípidos.

P680 Clorofila del centro de reacción del fotosistema II con un máximo de absorción a 680 nm en su estado neutro. La P viene de pigmento.

P700 Clorofila del centro de reacción del fotosistema I que con máximo de absorción a 700 nm en su estado neutro. La P viene de pigmento.

P870 Bacterioclorofila del centro de reacción de la bacteria fotosintética purpúrea que tiene un máximo de absorción a 870 nm en su estado neutro. La P viene de pigmento.

Paclobutrazol (aka: Bonzo) Inhibidor comercial de la biosíntesis de las giberelinas. El paclobutrazol inhibe la monooxigenasa P450, bloqueando la síntesis del aldehído de la GA_{12} en el retículo endoplásmico.

PAPS *Véase* 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosulfato.

PAR *Véase* radiación fotosintéticamente activa.

Paraheliotropismo Movimiento de las hojas para evitar la luz incidente.

Paraquat Herbicida que bloquea el flujo de electrones fotosintéticos al captar los electrones del fotosistema I.

Paredes primarias Primera pared celular formada, similar en arquitectura molecular a diversos tipos celulares no especializados en crecimiento. Contienen aproximadamente un 85% de polisacáridos y un 10% de proteínas en peso seco.

Paredes secundarias Paredes celulares sintetizadas por las células que no están en crecimiento. Su composición y estructura difiere de la pared celular primaria y con frecuencia consta de numerosas capas y contiene lignina. Se forma durante la diferenciación celular después de que cesa la expansión celular.

Parénquima Tejido vegetal metabólicamente activo que consta de unas paredes celulares delgadas, con espacios llenos de aire en las esquinas de la célula.

Pares de punteadura Punteaduras adyacentes en traqueidas contiguas. Ruta de baja resistencia para el movimiento del agua entre traqueidas.

Partenocarpia Producción de frutos sin fertilización, por lo que estos frutos carecen de semillas maduras. Se producen de forma natural en la banana y la piña.

Partículas en roseta (complejos terminales) Grandes complejos proteicos ordenados que están embebidos en la membrana plasmática y contienen celulosa sintasa.

Pascal (Pa) Unidad de presión del SI: $1 \text{ Pa} = 1 \text{ kg m}^{-1} \text{ s}^{-2}$, o $1 \text{ Pa} = 1 \text{ J m}^{-3}$.

Patch-clamp Método electrofisiológico que se utiliza en el estudio de bombas de iones y de canales iónicos.

Patógenos Microorganismos capaces de infectar a otros organismos y provocarles enfermedades.

PCD *Véase* muerte celular programada.

PCMBS (Ácido p-cloromercuribencenosulfónico) Reactivo que inhibe el transporte de las membranas plasmáticas, pero no permea la membrana celular.

Pecíolo Pedúnculo por el que el limbo de la hoja se une al tallo de la planta.

Pectinas Grupo heterogéneo de polisacáridos complejos de pared celular que forman un gel en el que está embebida la red de celulosa-hemicelulosa. Normalmente contienen azúcares ácidos como el ácido galacturónico y azúcares neutros como ramnosa, galactosa y arabinosa. Con frecuencia incluyen calcio como un componente estructural, permitiendo extracciones de la pared con quelantes o ácidos diluidos.

Pelos radicales Extensiones microscópicas de las células epidérmicas radiculares que aumentan mucho la superficie de la raíz, proporcionando una mayor capacidad de absorción de los iones del suelo y, en menor grado, del agua del suelo.

Péptido tránsito Secuencia de aminoácidos del extremo amino que facilita el paso de un precursor proteico a través de las membranas exterior e interior de un orgánulo como el cloroplasto. El péptido tránsito es entonces cortado.

Pérdida de calor latente de vaporización Pérdida de calor debido al enfriamiento que se produce como consecuencia de la evaporación del agua.

Pérdida discreta de calor Pérdida de calor de las superficies de las hojas al aire que circula alrededor de la hoja, en condiciones en las que la temperatura de la superficie de la hoja es superior a la del aire.

Peridermis Tejido producido por el cambium suberógeno que forma parte de la capa más externa de la corteza de los tallos y las raíces durante el crecimiento secundario de las plantas leñosas, reemplazando a la epidermis. También se forma sobre las heridas o capas que sufren abscisión después de podar una planta.

Período En fenómenos cíclicos (rítmicos), el tiempo entre dos puntos comparables en un ciclo repetitivo, como dos picos o dos valles.

Período de inducción El intérvalo de tiempo (período de latencia) entre la percepción de una señal y la activación de una respuesta. En el ciclo de Calvin, el tiempo de latencia es el período entre el inicio de la iluminación y la completa activación del ciclo.

Permeabilidad de membrana Grado en el que una membrana permite o restringe el movimiento de una sustancia.

Permeabilidad selectiva (de una membrana) Propiedad de la membrana que permite la difusión diferencial de las moléculas.

Peroxisoma Orgánulo en el que los sustratos orgánicos se oxidan por O_2. Estas reacciones generan H_2O_2, que es convertida en agua por el enzima catalasa en el mismo peroxisoma.

Peso fresco Peso de un tejido vivo.

Peso seco Peso de un tejido disecado (secado). Se suele usar para medir el crecimiento. Evita que existan las variaciones que se producen en las medidas del peso fresco respecto al contenido en agua.

Pétalos Estructura de las flores, visible y con colores brillantes, que está rodeada en la base por los sépalos. *Véase también* sépalos, estambres y carpelos.

Pfr Forma del fitocromo que absorbe la luz del rojo lejano y que se forma a partir de Pr por acción de la luz del rojo. El Pfr de color azul-verdoso se convierte de nuevo en el Pr por la luz del rojo lejano. Pfr es la forma fisiológicamente activa del fitocromo.

P_i *Véase* fosfato.

Pigmentos antena Las clorofilas y los carotenoides son los pigmentos presentes en los complejos antena.

PIN1 Proteína de membrana que forma parte del complejo que transporta las auxinas desde los extremos de la base de las células conductoras durante el transporte polar de las auxinas.

Piretroides Ésteres monoterpenoides con una alta toxicidad para los insectos. Tanto la forma natural como la sintética son componentes habituales de los insecticidas comerciales.

Piridoxal fosfato (vitamina B_6) Cofactor necesario para todas las reacciones de transaminación.

Placa celular Estructura similar a la pared celular que separa las nuevas células recién sintetizadas. Se forma a partir de los fragmoplastos que posteriormente se convierten en la pared celular.

Placas cribosas Áreas cribosas que se encuentran en los elementos del tubo criboso. Tienen grandes poros (poros de la placa cribosa), diferentes a los de las áreas cribosas y generalmente se encuentran en las paredes de los extremos de los elementos del tubo criboso.

Placas perforadas Paredes perforadas de los extremos de los elementos del vaso.

Planta de día intermedio Planta que florece sólo entre estrechos límites de duración del día (por ejemplo, entre 12 y 14 horas).

Planta de día largo (LDP) Planta que florece sólo en días largos (LDP cualitativa) o cuya floración se acelera en los días largos (LDP cuantitativa).

Planta de día neutro Planta cuya floración no está regulada por la duración del día.

Plantas C_3 Plantas en las que el primer producto estable de la fijación fotosintética del CO_2 es un compuesto de tres carbonos (como el 3-fosfoglicerato). *Véase* ciclo de Calvin.

Plantas C_4 Plantas en las que el primer producto estable de la asimilación del CO_2 en las células del mesofilo es un compuesto de cuatro carbonos que es inmediatamente transportado a las células de la vaina vascular y allí es descarboxilado. El CO_2 liberado entra en el ciclo de Calvin. *Véase* ciclo C_4.

Plantas CAM Plantas que fijan CO_2 durante la noche sobre un compuesto de cuatro carbonos (malato) que, después de ser almacenado en la vacuola, es transportado fuera de la vacuola y descarboxilado durante el día. El CO_2 liberado es asimilado por el ciclo de Calvin en el estroma del cloroplasto.

Plantas con semillas Plantas en las que el embrión está protegido y nutrido por la semilla. Las gimnospermas y las angiospermas.

Plantas de día corto (SDP) Planta que florece sólo en días cortos (SDP cualitativa) o cuya floración se acelera en días cortos (SDP cuantitativa).

Plantas sensibles al frío Plantas que experimentan una fuerte reducción de la tasa de crecimiento a temperaturas entre 0 y 12°C.

Plantas tolerantes a la sal Plantas que pueden sobrevivir o incluso desarrollarse en suelos con altas concentraciones de sal. *Véase también* halofitas.

Plantas transgénicas Planta que expresa un gen foráneo que se ha introducido por técnicas de ingeniería genética.

Plántulas etioladas Plántulas que crecen en oscuridad y en las que el hipocotilo y el tallo están más alargados, los cotiledones y las hojas no se expanden y los cloroplastos no maduran.

Plasmalema *Véase* membrana plasmática.

Plásmido T*i* Plásmido que se encuentra en las cepas virulentas de *Agrobacterium tumefaciens* y que induce grandes tumores.

Plásmidos Fragmentos circulares de DNA bacteriano extracromosómico que no son esenciales para la vida de la bacteria. Los plásmidos con frecuencia contienen genes que aumentan la capacidad de la bacteria de sobrevivir en entornos especiales.

Plasmodesmos Canales microscópicos que conectan células adyacentes a través de la pared celular y que están rellenos de citoplasma y un bastón central derivado del RE llamado desmotúbulo. Permiten el movimiento de moléculas de célula a célula a través del simplasto. El tamaño del poro aparentemente puede estar regulado por proteínas globulares que limitan la superficie interna del canal y del desmotúbulo para permitir que partículas grandes como los virus puedan atravesarlos.

Plasmólisis Encogimiento del protoplasma de una célula colocada en una solución hipertónica (bajo potencial osmótico), separándose de la pared celular, debido a la pérdida de agua.

Plastocianina Proteína pequeña (10,5 kDa) soluble que contiene cobre y cuya función es transferir los electrones entre el complejo citocromo b_6f y P700. Esta proteína se encuentra en el espacio del lumen.

Plastohidroquinona (PQH_2) Forma completamente reducida de la plastoquinona.

Plastoquinona Molécula pequeña, no polar, que difunde rápidamente por el centro no polar de la membrana del tilacoide y que es capaz de reducirse a plastohidroquinona. Proteína transportadora de electrones móvil que conecta el PSII y el PSI. Química y funcionalmente es similar a la ubiquinona de la cadena de transporte mitocondrial.

Pleiotrópico Relativo a un gen que tiene más de un efecto fenotípico (o quizás muchos) .

Plúmula *Véase* embrión.

Pneumatóforos Estructuras vegetales que sobresalen del agua y proporciona una ruta gaseosa para la difusión del oxígeno a las raíces que crecen dentro del agua o en suelos saturados de agua.

Poder de asimilación Energía disponible en forma de NADPH y ATP que se puede emplear en la fijación fotosintética de CO_2 en moléculas orgánicas.

Polen Pequeñas estructuras (microesporas) producidas por las anteras de las plantas con semillas. Contienen unos núcleos haploides masculinos que fertilizarán el huevo en el primordio seminal.

Polinización Transferencia del polen de la antera al estigma.

Polisacárido Polímero que consta de numerosos residuos de azúcar.

Politerpenoides Terpenos que contienen más de cincuenta carbonos.

Politerpenos ($[C_5]_n$) Terpenos de alto peso molecular que contienen entre 1500 y 15.000 unidades de isopreno, como por ejemplo, el caucho.

Poro estomático Apertura de la epidermis al interior de la hoja. Rodeado por un par de células guarda.

Potencial de difusión Diferencia de potencial (voltaje) que se genera a través de una membrana semipermeable como resultado de la diferente permeabilidad de los solutos con cargas opuestas (por ejemplo, K^+ y Cl^-).

Potencial de difusión de Goldman Potencial de difusión calculado por la ecuación de Goldman.

Potencial gravitacional, Ψ_g Componente del potencial hídrico del agua determinado por el efecto de la gravedad sobre la energía libre del agua.

Potencial de Nernst Potencial eléctrico descrito por la ecuación de Nernst.

Potencial de presión (Ψ_p) Presión hidrostática de una solución superior a la presión atmosférica ambiental.

Potencial de solutos (o potencial osmótico), Ψ_s Efecto de los solutos disueltos en el potencial hídrico.

Potencial electroquímico El potencial químico de un soluto cargado eléctricamente.

Potencial hídrico, Ψ_w El potencial hídrico es una medida de la energía libre asociada al agua por unidad de volumen ($J\ m^{-3}$). Estas unidades son equivalentes a las unidades de presión, como los pascales. Ψ_w es función del potencial de solutos, el potencial de presión y el potencial gravitacional: $\Psi_w = \Psi_s + \Psi_p + \Psi_g$. El término Ψ_g suele ignorarse por ser despreciable para alturas inferiores a cinco metros.

Potencial mátrico, Ψ_m (o presión matricial) Suma del potencial osmótico (Ψ_s) y la presión hidrostática (Ψ_p). Útil en suelos secos, semillas y paredes celulares, situaciones donde las medidas separadas de Ψ_s y Ψ_p son difíciles o imposibles.

Potencial químico Energía libre asociada a una sustancia que está disponible para realizar un trabajo.

Potencial químico del agua *Véase* potencial hídrico.

PPFD *Véase* densidad de flujo fotónico fotosintético.

PP$_i$ *Véase* difosfato.

Pr Forma del fitocromo que absorbe la luz del rojo. Ésta es la forma en la que el fitocromo se reordena. El Pr de color de azul es convertido por la luz del rojo a la forma que absorbe la luz del rojo lejano, Pfr.

Presión crítica de oxígeno (COP) Presión de oxígeno a la cual se produce una reducción de la tasa respiratoria por falta de O_2.

Presión de turgencia (o presión hidrostática) Fuerza por unidad de área en un líquido. En una célula vegetal, la presión de turgencia empuja la membrana plasmática contra la pared celular rígida y proporciona la fuerza necesaria para la expansión celular.

Presión hidrostática Presión generada por compresión de agua en un espacio reducido. Se mide en unas unidades llamadas pascales (Pa) o, más adecuadamente, megapascales (MPa).

Presión osmótica (π) El valor absoluto del potencial osmótico (Ψ_s). Como Ψ_s es negativo, los valores de π son positivos.

Presión radical Presión hidrostática positiva en el xilema de las raíces.

Primera ley de Fick La tasa de difusión es directamente proporcional al gradiente de concentración, definido como la diferencia de concentración de una sustancia entre dos puntos separados una distancia Δx.

Primordio Región localizada del meristemo apical caulinar que se caracteriza por una elevada división celular y que da lugar a la formación o crecimiento de células con un futuro identificable, como una hoja.

Primordio floral Un primordio es el primer estado reconocible cuando un grupo de células empieza a formar una estructura. En *Arabidopsis*, en la flor en desarrollo, a partir del meristemo floral, se forman cuatro verticilos de los primordios florales y estos primordios dan lugar a sépalos, pétalos, estambres, primordios seminales, estilo y estigma.

Primordio foliar Región del meristemo apical caulinar que formará una hoja durante el desarrollo normal de la planta.

Primordio seminal En las semillas vegetales, la estructura que contiene el saco embrionario y se desarrolla en la semilla después de la fertilización de la ovocélula que contiene.

Procambium Células meristemáticas primarias que se diferencian en xilema, floema y cambium.

Productos naturales *Véase* metabolitos secundarios.

Productos secundarios *Véase* metabolitos secundarios.

Prohexadiona (BX-112) Inhibidor de la biosíntesis de GA. Inhibe la 3-β-hidroxilasa que convierte la GA_{20} inactiva en la GA_1 activadora del crecimiento.

Promeristemo La parte del meristemo apical caulinar o de la raíz que contiene las células madre y los intermedios derivados que todavía no han empezado a diferenciarse.

Propiedades coligativas Propiedades de las soluciones que dependen del número de partículas disueltas y no de sus características químicas.

Propiedades reológicas Se refiere a las propiedades de flujo de un material. *Véase* propiedades viscoelásticas.

Propiedades viscoelásticas Propiedades que son intermedias entre las de un sólido y las de un líquido y combinan el comportamiento viscoso y elástico.

Proplasto Tipo de plasto inmaduro no desarrollado que se encuentra en los tejidos meristemáticos y que puede convertirse, durante el desarrollo, en varios tipos de plastos especializados como cloroplastos, amiloplastos y cromoplastos.

Proteína ABP1 Proteína glicosilada de unión a auxinas que se encuentra en el retículo endoplásmico (RE).

Proteína *cdc2* La principal proteína quinasa dependiente de ciclina (ciclo de división celular 2). Su biosíntesis está estimulada por auxinas.

Proteína CTR1 Regulador de la triple respuesta al etileno; es similar a la serina/treonina proteína quinasa implicada en la transducción de la señal.

Proteína desacopladora Proteína que aumenta la permeabilidad de la membrana mitocondrial interna a los protones, disminuyendo la eficiencia en la transducción de energía.

Proteína ferrosulfurada de Rieske Proteína en la que dos átomos de hierro están unidos a dos átomos de azufre con dos histidinas y dos cisteínas como ligandos.

Proteína G Proteína de unión a GTP implicada en la transducción de señal.

Proteína fosfatasa Enzima que elimina los grupos fosfatos reguladores de las proteínas. Tiene funciones importantes en la regulación enzimática, la expresión génica y la transducción de señal.

Proteína G heterotrimérica Proteína anclada a la membrana que une GTP y que está formada por tres subunidades: α, β y γ. Media en las rutas de transducción de señal de los receptores de membrana unidos a la proteína G.

Proteína Hpt En *Arabidopsis*, proteína histidina fosfotransferasa.

Proteína P Conjunto de proteínas abundantes en los elementos cribosos de la mayoría de las angiospermas y ausentes en los de las gimnospermas. Se sintetizan en forma tubular, fibrilar, granular y cristalina, dependiendo de las especies y madurez de las células. Sellan los elementos cribosos dañados, por obturación de los poros de las placas cribosas. Pueden tener otras funciones como la defensa contra los insectos que se alimentan del floema. Inicialmente se las llamó «limo» (*slime* en inglés).

Proteína quinasa Enzima que tiene la capacidad de transferir grupos fosfatos desde el ATP a aminoácidos específicos como histidina, serina, treonina o tirosina, localizados en ellas mismas o en otras proteínas. Tiene un papel importante en la regulación enzimática, la expresión génica y la transducción de señal.

Proteína quinasas dependiente de ciclina (CDK) Proteína quinasas que regulan la transición desde la fase G_1 a la S y desde la G_2 a la mitosis, durante el ciclo celular.

Proteína SUC2 Transportador simporte sacarosa/H^+ que se encuentra en la membrana plasmática de las células de compañía.

Proteína SUT1 Uno de los diversos transportadores simporte sacarosa/H^+ que se encuentran en la membrana plasmática de los elementos cribosos.

Proteína transportadora de grupos acilo (ACP) Proteína ácida de bajo peso molecular, en la que las cadenas de grupos acilo que se están formando se unen covalentemente a la ácido graso sintasa.

Proteínas afines de choque térmico Proteínas chaperonas moleculares que se expresan constitutivamente y funcionan de forma similar a las HSPs.

Proteínas antena de clorofilas *a/b* *Véase* proteínas del complejo de captura de la luz.

Proteínas anticongelantes Proteínas que confieren a las soluciones acuosas propiedades de histéresis térmica. Estas proteínas se unen a las superficies de los cristales de hielo cuando se inducen por frío, para impedir o reducir el crecimiento del cristal, limitando de esta forma el daño por frío. Algunas proteínas anticongelantes pueden ser idénticas a proteínas relacionadas con patogénesis.

Proteínas de arabinogalactanos (AGPs) Proteínas de pared celular, solubles en agua y altamente glicosiladas, que pueden funcionar en la adhesión y señalización celular durante la diferenciación de las células.

Proteínas de choque térmico (HSPs) Conjunto específico de proteínas que son inducidas rápidamente por un aumento de la temperatura y por otros factores que conducen a la desnaturalización de las proteínas. La mayoría actúan como chaperonas moleculares.

Proteínas de histéresis térmica *Véase* proteínas anticongelantes.

Proteínas del complejo de captura de la luz (proteínas LHC) Proteínas que contienen clorofila asociada a una o varias proteínas de los dos fotosistemas en organismos eucarióticos. También se las conoce como proteínas antena clorofila *a/b*.

Proteínas de unión a ERE (EREBPs) Proteínas que se unen a secuencias *ERE* (elemento de respuesta al etileno).

Radícula Raíz embrionaria. Normalmente el primer órgano que emerge en la germinación.

Raíces adventicias Raíces que surgen de otras estructuras que no son las raíces de la planta, por ejemplo, de hojas o tallos.

Raíces laterales Proceden del periciclo de las regiones maduras de la raíz mediante el establecimiento de los meristemos secundarios que crecen a través del córtex y la epidermis, estableciendo un nuevo eje de crecimiento.

Raíz pivotante Principal eje radical de la raíz primaria a partir del cual se desarrollan las raíces laterales.

Raíz primaria Raíz generada directamente por el crecimiento de la raíz embrionaria o radícula.

Reacciones acopladas *Véase* acoplamiento.

Reacciones de los tilacoides Reacciones de la fotosíntesis que se producen en las membranas internas especializadas de los cloroplastos (llamados tilacoides). Entre ellas están el transporte de electrones de la fotosíntesis y la síntesis de ATP.

Reacciones en el estroma Las reacciones de fijación y de reducción del carbono en la fotosíntesis, que se producen en el estroma de los cloroplastos.

Reacciones redox Reacciones químicas implicadas en la oxidación y reducción simultánea de especies moleculares.

Red de Hartig Red fúngica de hifas que rodea, pero no penetra, en las células corticales de la raíz.

Redistribución Diversificación regulada de los fotoasimilados entre almacenamiento, utilización y/o transporte.

Reducción Proceso químico por el cual los electrones o átomos de hidrógeno se añaden a una sustancia.

Rejuvenecimiento Reversión de los brotes adultos a brotes juveniles. Puede ser promovida por hormonas, carencias minerales, falta de luz, estrés hídrico, defoliación y baja temperatura.

Relación ADP/O Relaciona el consumo de ATP por cada átomo de oxígeno producido en la fosforilación oxidativa. Proporciona el número de ATPs sintetizado por cada dos electrones cedidos al oxígeno.

Relación de Bowen Relación entre la pérdida discreta de calor y el calor perdido por evaporación, los dos procesos más importantes en la regulación de la temperatura de la hoja.

Relación de control respiratorio La relación entre las tasas de consumo de oxígeno de mitocondrias aisladas en presencia y ausencia de ADP. Se usa como medida de la calidad de una preparación mitocondrial.

Relajación de la tensión Despolimerización selectiva de los enlaces entre los polímeros de la pared celular primaria, permitiendo a los polímeros deslizarse unos sobre otros, aumentando, simultáneamente, el área de la superficie de la pared y reduciendo la tensión física de la pared.

Rendimiento cuántico Relación entre el rendimiento de un determinado producto de un proceso fotoquímico respecto del número total de cuantos absorbidos.

Rendimiento umbral (U) Valor mínimo de la presión de turgencia al que es posible medir el inicio de la extensión de la pared celular.

Reparto Distribución diferencial de los fotoasimilados a los múltiples sumideros de la planta.

Represores Proteínas que, bien solas o bien junto con otras proteínas, reprimen la expresión de un gen. *Véase* factores de transcripción.

Resistencia a la desecación Capacidad de una planta de limitar y controlar las consecuencias del déficit hídrico. Los mecanismos incluyen el retraso de la desecación y la tolerancia a la desecación.

Resistencia a la difusión Limitación impuesta por la capa de aire estacionaria y los estomas a la libre difusión de los gases desde y hacia el interior de la hoja.

Resistencia al estrés *Véase* tolerancia al estrés.

Resistencia de la capa de aire estacionaria (r_b) Resistencia a la difusión del vapor de agua debida a la capa de aire próxima a la superficie de la hoja. Un componente de la resistencia difusional.

Resistencia de la fase líquida Resistencia u oposición que reduce la difusión del CO_2 al interior de la hoja, desde las paredes de las células del mesofilo a los lugares del cloroplasto donde se produce la carboxilación.

Resistencia del espacio aéreo intercelular Resistencia u oposición que reduce la difusión del CO_2 dentro de la hoja, desde la cavidad subestomática de las paredes de las células del mesofilo.

Resistencia estomática (r_s) Medida de la limitación de la difusión libre de los gases desde y hacia la hoja por los poros estomáticos. Es la inversa de la conductancia estomática.

Resonancia electrónica de espín (ESR) Técnica de resonancia magnética que detecta los electrones desapareados en las moléculas. Medidas instrumentales que identifican los transportadores de electrones intermedios en el sistema de transporte electrónico fotosintético.

Respiración Oxidación completa de los compuestos carbonados a CO_2 y H_2O, usando oxígeno como aceptor final de electrones. La energía es liberada y conservada en forma de ATP.

Respuesta al choque térmico Aumento de la síntesis de HSPs y reducción de la síntesis de otras proteínas tras un episodio de calor estresante, pero no letal.

Respuesta hipersensible Defensa común de la planta tras una infección microbiana, en la que las células que rodean el sitio de la infección mueren rápidamente, dejando al patógeno sin nutrientes y evitando su propagación.

Respuesta para evitar la sombra Respuesta a la sombra que incluye el alargamiento del tallo.

Respuesta sistémica adquirida (SAR) Aumento de la resistencia de toda la planta a un determinado rango de patógenos después de haber sufrido la infección de un patógeno en una parte de la planta.

Respuestas a la luz del azul Respuestas de las células vegetales y los organismos a la luz del azul (400 a 500 nm). Entre ellas está el fototropismo, el movimiento de los cloroplastos en las células, el movimiento de las hojas con la luz del sol, la inhibición de la elongación del hipocotilo, la estimulación de la síntesis de clorofila y carotenoides, la activación de la expresión génica y los movimientos estomáticos.

Retraso de la desecación Capacidad de una planta de mantenerse hidratada cuando el agua del entorno escasea.

Reversión floral Conversión del meristemo floral en un meristemo vegetativo o de inflorescencia, dando lugar a un brote o una inflorescencia para crecer directamente fuera de la flor que se está desarrollando.

Rhizobia Término colectivo para las bacterias del suelo que crean unas relaciones simbióticas (mutualistas) con los miembros de la familia de las Leguminosas.

Riboflavina Vitamina que es parte del FAD y FMN.

Ribósidos de zeatina La zeatina con una ribosa unida a la aminopurina. La principal citoquinina en el exudado del xilema.

Ritmo circadiano Actividad biológica que muestra un ciclo de alta actividad y uno de baja actividad, independientes de estímulos externos, con una periodicidad de unas 24 horas (Del latín *circa diem*: aproximadamente un día).

Ritmo endógeno Ritmo que se mantiene en ausencia de factores externos que lo controlen como la luz.

Rizosfera Microentorno inmediato que rodea a la raíz.

RNA sentido RNA capaz de traducirse a una proteína funcional.

Rotenona Inhibidor específico del complejo I.

Rubisco Acrónimo del enzima *ribu*losa *bis*fosfato *c*arboxilasa/*o*xigenasa presente en el cloroplasto. En la reacción carboxilasa, la rubisco utiliza el CO_2 y la ribulosa-1,5-bisfosfato para formar dos moléculas de 3-fosfoglicerato. También actúa como una oxigenasa que incorpora O_2 a la ribulosa-1,5-bisfosfato para dar una molécula de 3-fosfoglicerato y otra de 2-fosfoglicolato. La competencia entre el CO_2 y el O_2 por la ribulosa-1,5-bisfosfato limita la fijación neta del CO_2.

Rubisco activasa Enzima que facilita la disociación de los complejos del azúcar bisfosfato-rubisco y, por ello, activa a la rubisco.

RUBs Familia de proteínas pequeñas relacionadas con la ubiquitina. Normalmente, las proteínas unidas a RUB se activan, y no se degradan.

Ruta alternativa Ruta en la que se produce la oxidación del ubiquinol y la reducción del oxígeno por la oxidasa alternativa. También conocida como ruta resistente al cianuro.

Ruta apoplástica Ruta por la que el agua y los compuestos solubles en agua se mueven exclusivamente a través de las paredes celulares sin atravesar ninguna membrana.

Ruta del ácido siquímico Reacciones que convierten los precursores de carbohidratos simples en aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina y triptófano).

Tasa de transferencia de masa Cantidad de material que pasa a través de una sección dada del floema o de un elemento criboso por unidad de tiempo.

Tasa de transpiración La relación entre el agua pérdida y el carbono ganado por fotosíntesis. Mide la efectividad de las plantas en moderar las pérdidas de agua mientras permite un aporte suficiente del CO_2.

T-DNA Parte pequeña del DNA del plásmido T_i que se incorpora al DNA nuclear de la célula huésped vegetal y que contiene los genes necesarios para la biosíntesis de la *trans*-zeaxantina, auxinas y opinas. Como sus promotores son los promotores eucariotas vegetales, ninguno de los genes del T-DNA se expresa en la bacteria y se transcriben después de haberse insertado en los cromosomas vegetales.

Tegumento Capa más externa de tejido que rodea al núcleo de un primordio seminal; da lugar a la cubierta seminal.

Tejido calloso Es el resultado de un crecimiento desorganizado de células vegetales no diferenciadas en un cultivo de tejido.

Tejido vascular Tejido vegetal especializado en el transporte de agua (xilema) y de fotoasimilados (floema).

Tensión Con frecuencia se usa para referirse a la presión de un gas.

Tensión superficial Fuerza ejercida por las moléculas de agua en la interfase aire-agua, dando lugar a las propiedades de cohesión y de adhesión de las moléculas de agua. Esta fuerza minimiza el área de la interfase aire-agua.

Teoría de la cohesión-tensión Modelo en el que la savia asciende por el xilema a lo largo del tallo de la planta, debido a que la evaporación del agua de las hojas en la parte superior del tallo crea una tensión (presión hidrostática negativa) que empuja el agua a lo largo de toda la columna.

Teratomas Tumores que contienen estructuras parcialmente desarrolladas. La mutación del locus *tmr* del T-DNA produce teratomas con una proliferación anormal de las raíces.

Termotolerancia inducida Tolerancia a temperaturas altas, letales, tras un breve período de exposición a un estrés subletal por calor.

Terpenos (isoprenoides) Grupo de lípidos vegetales que incluye carotenoides y esteroles.

Terpenos (terpenoides o isoprenoides) Gran grupo de compuestos formados por unidades de isopreno de cinco carbonos, muchos de los cuales son metabolitos secundarios con actividad antiherbívora.

Test de crecimiento Bioensayo basado en la capacidad de las auxinas de estimular la elongación de las secciones de coleóptilo de *Avena*.

Test de curvatura Bioensayo para las auxinas que emplea la curvatura del coleóptilo de *Avena* en respuesta a la aplicación asimétrica de auxinas en un bloque de agar.

Tetraterpenos Terpenos que tienen cuarenta carbonos, ocho unidades de isopreno. El último compuesto funciona como los bloques de una construcción en los procesos anabólicos, mientras que el exceso es excretado como acetato.

TIBA (Ácido 2,3,5-triyodobenzoico) Inhibidor competitivo del transporte polar de auxinas.

Tigmotropismo Crecimiento vegetal en respuesta al contacto. Permite a las raíces crecer alrededor de rocas y a los tallos de plantas trepadoras enrollarse alrededor de las estructuras para sujetarse.

Tilacoides Membranas internas especializadas de los cloroplastos que contienen clorofilas y donde tiene lugar la absorción de la luz y las reacciones de la fotosíntesis.

Tiosulfonato ($R\text{-}SO_3^-$) Intermediario que se une al enzima durante la reducción del sulfonato. Se forma a partir de APS.

Tiosulfuro ($R\text{-}S^-$) Intermediario en la reducción del sulfuro. Formado a partir del tiosulfonato. Reacciona con la O-acetilserina para formar la cisteína.

Tolerancia a la desecación (evitar la sequía) Capacidad de una planta de funcionar a pesar de estar deshidratada.

Tolerancia a la inundación Se refiere a las plantas que pueden resistir temporalmente la anoxia, aunque sólo durante unos pocos días.

Tolerancia al estrés (resistencia al estrés) Capacidad de una planta para enfrentarse a un entorno desfavorable.

Toro Engrosamiento central en membranas de las punteaduras de las traqueidas de la mayoría de las gimnospermas.

Totipotencia En células diferenciadas, retención total de la capacidad genética de desarrollar una planta completa.

Transaminación Reacciones reversibles catalizadas por las transaminasas en las que el nitrógeno de un grupo amino es transferido a un α-aminoácido para formar un α-cetoácido.

***trans*-cicloocteno** Potente inhibidor competitivo de unión al etileno.

***trans*-zeatina** Principal citoquinina libre; químicamente es similar a la quinetina. Aplicada exógenamente junto con las auxinas, induce la división celular en células de callo y promueve la formación de raíces o yemas. La *trans*-zeatina exógena retrasa la senescencia de las hojas y promueve la expansión de los cotiledones de las hojas. *Véase* zeatina.

Transducción de señal Serie de procesos por los que una señal extracelular (normalmente, la luz, una hormona o un neurotransmisor) interactúa con un receptor de la superficie celular, provocando un cambio a nivel del segundo mensajero y, en último término, en el funcionamiento de la célula.

Transferencia de energía En las reacciones luminosas de la fotosíntesis, la transferencia directa de energía desde una molécula excitada, como el caroteno, a otra molécula como la clorofila. La transferencia de energía sólo puede tener lugar entre moléculas químicamente idénticas, como transferencias de clorofila a clorofila.

Transferencia de energía por resonancia Transferencia de energía no radiativa, molécula a molécula, desde una molécula excitada a otra, como la transferencia de energía desde el complejo antena al centro de reacción.

Tumor Masa de células que se divide rápidamente, de forma indiferenciada y desorganizada.

Tumor de corona Enfermedad vegetal que forma un tumor como consecuencia de la infección por *Agrobacterium tumefaciens* de una herida en el tallo o en el tronco.

Tumores genéticos Tumores espontáneos producidos por ciertos genotipos. Se forma en el diez por ciento de los cruces interespecíficos del género *Nicotiana* debido a una producción excesiva de citoquininas.

Túnica Capas de células del meristemo apical caulinar. La capa más exterior de la túnica forma la epidermis del tallo.

Turgencia Firmeza de una célula como resultado de su presión hidrostática o de turgencia.

Ubiquinona Proteína móvil, encargada del transporte de electrones en la cadena de transporte electrónico de la mitocondria. Química y funcionalmente es similar a la plastoquinona de la cadena de transporte electrónico de la fotosíntesis.

Ubiquitina Polipéptido de pequeño tamaño que se une covalentemente a proteínas por la acción de la ubiquitina ligasa, empleando energía del ATP, y que sirve como señal de reconocimiento para un complejo proteolítico, el proteasoma.

Ubiquitinación Señalización de una proteína con la ubiquitina (una proteína pequeña) para que sea destruida por el proteasoma.

Umbral Magnitud de un estímulo que necesita ser superada para elicitar una respuesta.

Unisexual *Véase* flores imperfectas.

Vaina de almidón Capa de células que rodea los tejidos vasculares del tallo y del coleóptilo y que se continúa con la endodermis radical. Se requiere para el gravitropismo en los brotes de *Arabidopsis*.

Vaina vascular Una o más capas de las células altamente empaquetadas que rodean las pequeñas venas de las hojas y los principales haces vasculares de los tallos.

Vanadato Inhibidor de la H^+-ATPasa. La H^+-ATPasa es fosforilada como parte del ciclo catalítico que hidroliza el ATP. Debido a esta etapa de fosforilación, las ATPasas de la membrana plasmática son fuertemente inhibidas por ortovanadato (HVO_4^{2-}), un análogo del fosfato (HPO_4^{2-}), que compite con el fosfato del ATP por el sitio de fosforilación del ácido aspártico del enzima.

Vasos Finas e intrincadas ramificaciones de la red de los haces vasculares de la hoja.

V-ATPasa H^+-ATPasa vacuolar.

Vernalización En algunas especies, el requerimiento de una temperatura fría para que tenga lugar su floración. Este término deriva de la palabra «primavera».

Vitamina B_6 *Véase* piridoxalfosfato.

VLFR (Respuesta de muy baja fluencia) Respuesta del fitocromo cuya magnitud es proporcional a una fluencia muy baja (1 a 100 nmol m^{-2}).

ÍNDICE DE MATERIAS

La letra **f** o **t** a continuación del número de una página indica que la entrada está en una figura o una tabla, respectivamente.

A

ABA. *Véase* Ácido abscísico
ABA aldehído, 1032f, 1033
ABA-β-D-glucosil éster (ABA-GE), 1032f, 1033
ABA 6-hidroximetilo, 1033
  α-hidroxinitrilo, 563
Abedul
  abscisión, 1012f
  resistencia al enfriamiento, 1169
Abedul blanco, 1169
Abedul silvestre, 1085
Abeto subalpino (*Picea engelmannii*), 1168
Abies lasiocarpa, 1168
Abronia villosa, 1097
Abscisión, 861-862
  déficit hídrico, 1134-1135
  definición, 696, 1011
  estados, 1011-1014
  producción de etileno regulada por axinas, 1011-1014
Absorción de agua, y expansión celular, 619-620, 622f
Acacia heterophylla, 1081, 1083f
ACC. *Véase* Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico
ACC oxidasa, 698, 996, 1002, 1185, 1186
ACC sintasa, 698, 867, 995, 997-998, 1002, 1186
Acedera, 191t
Aceite
  de cacahuete, 465
  de limón, 539
  de menta, 539
  de semillas, 465
  de semillas de ricino, 339
Aceites
  como reserva de carbono, 463-464
  componentes de ácidos grasos, 465
  energía almacenada, 463-464
  esenciales, 539-540
Aceptores de quinona, 247
Acer pseudoplatanus, 1085t
Acetaldehído, 427f
Acetil CoA, 278
  azufre, 514
  biosíntesis de terpenos, 537f, 538
  ciclo del ácido cítrico, 436, 437f
  ciclo del glioxilato, 474f, 475-476
  metabolismo de lípidos, 473, 474f, 475
  síntesis de ácidos grasos, 469f
Acetil CoA carboxilasa, 468, 469f
N-Acetiltransferasa, 1007
O-Acetilserina (OAS), 512, 513
Acetoacetil-ACP, 468, 469f
Acetobacter diazotrophicus, 502
Ácido abscísico (ABA)
  activación de los canales aniónicos lentos, 1053-1054
  acumulación en las yemas latentes, 1043-1044
  bioensayos, 1031
  biosíntesis, 1031-1035
  cierre estomático, 1044-1045, 1050-1054, 1057f, 1136-1138
  concentraciones en tejidos, 1034

  concepto de «trampa aniónica» en la compartimentalización intracelular, 1035
  crecimiento del tallo, 1045-1047
  descubrimiento, 1029
  dominancia apical, 858
  dormición de la semilla, 1038-1042
  dormición del embrión, 652
  efectos fisiológicos y sobre el desarrollo, 1035-1047
  estructura química, 1030-1031
  genes de respuesta al estrés, 1151-1152
  GMP cíclico, 753
  inactivación, 1034-1035
  inhibición de la producción de enzimas inducidas por GA, 1044
  inhibición de la viviparidad y de la germinación precoz, 1042-1043
  mecanismo de acción a nivel celular y molecular, 1048-1061
  niveles en semillas, 1037
  presencia, 1030-1031
  proteínas de reserva en semillas, 1038
  raíces, 851-854, 1034, 1035, 1045-1047, 1046f, 1185
  senescencia de la hoja, 1010, 1047
  terpenos, 536
  tolerancia a la congelación, 1169-1171
  tolerancia del embrión a la desecación, 1037-1038
  transporte, 409, 1035-1036
Ácido acético, 1182
Ácido alantoico, 376f, 510f
Ácido γ-aminobutírico (GABA), 1161-1162
Ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC)
  biosíntesis del etileno, 992, 994, 996,
  epinastia de la hoja, 1004-1005
  hipoxia, 1184
  senescencia de la hoja, 1010
Ácido aminoisobutírico, 972f
Ácido aminolevulínico, 259f, 718
Ácido aminoxiacético (AOA), 999
Ácido azetidina-2-carboxílico, 565
Ácido 1,3-bisfofoglicérico, 514
Ácido butírico, 1182
Ácido cafeico, 545f, 546
Ácido cinámico, 520, 546
Ácido *trans*-cinámico, 545f, 546
Ácido cítrico, quelación del hierro, 124, 125
Ácido 2-cloroetilfosfónico, 1015
Ácido 4-cloroindol-3-acético (4-Cl-IAA), 811f
Ácido *p*-cloromercuribencenosulfónico, 398
Ácido *p*-cumárico, 520, 545f, 546
Ácido desoxidorribonucleico (DNA)
  cloroplastos, 25, 256
  cromosomas, 11-13, 14f
  mitocondria, 21replicación durante el ciclo celular, 37
Ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), 812f
Ácido dietilentriaminapentaacético (DPTA), 125
Ácido 4,4’-diisotiocianatosilbenceno-2,2’disulfónico (DIDS), 1053
Ácido esteárico, 465t, 1164t
Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), 125
Ácido faseico (PA), 1032f, 1034
Ácido ferúlico, 546, 547f
Ácido fítico, 927
Ácido fosfatídico, 463f, 470, 1055
Ácido gálico, 556
Ácido giberélico, 882, 900
Ácido α-D-glucurónico, 595f
Ácido glutámico, 259f, 376f
Ácido graso acil CoA, 474f, 47
Ácido graso CoA sintasa, 474f, 475
Ácido indol-3-acético (IAA)
  conjugado, 819-822
  descubrimiento, 808-812
  estructura, 811f
  raíces, 852
  reservas subcelulares, 822
  rutas de biosíntesis, 815-819, 818f
  rutas de degradación, 820-822
  tejidos en los que sintetiza, 813-815, 819-822
  transporte no polar por el floema, 833-834
  transporte polar, 822-834
  Véase también Auxinas

Ácido indol-3-butírico (IBA), 811f
Ácido indol-3-pirúvico (IPA), 815, 818, 818f
Ácido *mio*-inositolfosfórico, 927
Ácido jasmónico, 567, 568
Ácido *ent*-kaurenóico, 907
Ácido laúrico, 465t
Ácido linoleico, 465t, 1164t
Ácido linolénico, 465t, 568, 1164t
Ácido málico, 297
Ácido 2-metoxi-3,6-diclorobenzoico (Dicamba), 812f
Ácido mevalónico, 537f, 538
Ácido mirístico, 465t
Ácido 1-*N*-naftilftalámico (NPA), 685, 829, 832, 833, 861, 1007
Ácido 1-naftoxiacético (1-NOA), 830
Ácido nicotínico, 558
Ácido nítrico, 141
Ácido 5-nitro-2,3-fenilpropilaminobenzoico (NPPB), 1053
Ácido oleico, 465t, 1164t
Ácido oxalacetato, 428
Ácido oxindol-3-acético (OxIAA), 821-822
Ácido palmítico, 465t, 1164t
Ácido pentético, 125
Ácido poligalacturónico, 515f, 516, 601f, 602
Ácido ribonucleico (RNA)
    síntesis de proteínas, 12-14, 15f
Ácido salicilhidroxámico (SHAM), 452
Ácido salicílico, 452, 547f, 576
Ácido sulfúrico
lluvia ácida, 511
pH del suelo, 141-142
Ácido tartático, 124, 515f, 516
Ácido 2,3,5-triyodobenzoico (TIBA), 829, 832, 858
Ácido xantóxico, 1033
Ácidos grasos, 464
    biosíntesis, 468-470, 468-470, 469f
    cutina, 530
    daño por congelación, 1163-1165
    fosfolípidos, 8
    insaturados, 8, 465t
    β-oxidación, 474f, 475
    saturados, 8, 465t
Ácidos urónicos, 595f
Acidosis citosólica, 1184
Acil CoA:DAG acil transferasa, 471
Aclimatación, 1130
Aclimatación a la congelación, 1169-1171
Aclimatación al frío
    inducción génica durante, 1171-1173
    plantas leñosas, 1167
    sustancias crioprotectoras, 1166
    Véase también Tolerancia a la congelación
Actina, 30. *Véase también* Microfilamentos
Actina-G, 30
Actividad de la rubisco, 279
Actividad del sumidero, 406-407
Acuaporinas, 59, 186, 1148
Adaptación al estrés, 1130
Adelfa, 1155
Adenilato quinasa, 293t
5'-Adenililsulfato, 511
Adenosina difosfato (ADP)
    fosforilación oxidativa de ATP, 447, 449
    regulación de la respiración, 454-457
    transporte mitocondrial transmembrana, 447, 448f, 449
    Adenosina-5'-fosfosulfato (APS), 511, 512f, 512, 513
Adenosina trifosfato (ATP)
    fosforilación a nivel de sustrato, 438
    rendimiento total de la respiración aeróbica, 449-450
    transporte activo, 173
    transporte mitocondrial transmembrana, 447, 448f, 449
    Véase también Síntesis de ATP
ADH. *Véase* Alcohol deshidrogenasa
Adhesión, 57
ADP. *Véase* Adenosina difosfato (ADP)
ADP-glucosa, 300f, 301
ADP-glucosa difosforilasa, 300f, 301, 302t, 304, 405
S-Adenosilmetionina (SAM), 994
S-Adenosilmetionina sintasa, 1148

Aecuorina, 1162
Aerénquima, 462, 1186
Aeropónicos, 123
Aeschenomene, 500t
Áfidos, 375
Agate (variedad de soja), 1113
Agente Naranja, 1013
Aglicona, 564
AGPs. *Véase también* Proteínas de arabinogalactano
Agrobacterium
    rhizogenes, 498
    tumefaciens, 816, 945, 952, 954-956, 954f
Agua
    como disolvente, 54, 56
    en la vida vegetal, 51-53
    estructura y propiedades, 54-58
    oxidación durante la fotosíntesis, 232, 237-239
    paredes celulares primarias, 594
    potencial químico, 63
    savia del floema, 374
    suelo, 79-84
Agua de irrigación
    estrés salino, 1173
    propiedades, 1174t
    salinización del suelo, 141-142
Agua de mar, propiedades, 1174t
Agua del suelo
    capacidad de campo, 80
    características físicas de los suelos, 79-82
    flujo de masa, 83
    potencial hídrico y potencial hidrostático negativo, 81
    resistencia estomática de la hoja, 103-104
Ajuste osmótico, 1140-1142, 1177-1178
Álamo, 337, 1169
Alanina aminotransferasa, 293t
Alantoina, 376f, 510f
Albizia, 735f, 736
Alcaloides, 558-569
Alcohol deshidrogenasa, 429, 1189
Aldolasa, 273f, 274t, 276
Alelopatía, 548
Alfalfa
    fototropismo estimulado por la luz del azul, 769
    rhizobia, 499t, 500t
    tolerancia a la congelación, 1169
Algas
    bombas de dióxido de carbono, 288-289
    respuestas del fitocromo, 712t
Algas verdes, patrones de incorporación del carbono, 299
Aliso, 499t
Allard, Henry, 1095
Allium, 782
Almacenamiento post-cosecha, etileno, 1015-1016
Almidón
    glicólisis, 425, 426f
    relaciones osmóticas en las células guarda, 782, 783f, 784
Almidón sintasa, 302t
Alonsoa warscewiczii, 370f
Alpiste, 808
Altramuz, 324f
Altramuz blanco, 494f
Altura de las plantas, giberelinas, 897-898
Alubia
    dominancia apical, 857, 858
    duración del día, 1097
    formas de transporte de nitrógeno, 509-510
    Véase también Judía; Haba; *Vicia faba*
Aluminatos, 139
Aluminio
    niveles en los tejidos vegetales, 119t
Amaranthus edulis, 294
Amaranto, 290f
Ambientes anóxicos. *Véase* Deficiencias de oxígeno
Amidas
    como forma de transporte de nitrógeno, 509-510
    savia del floema, 374, 376f
    transporte por el xilema, 377
    β-Amilasa, 927

Amiloplastos, 25
estatolitos, 848-851
Aminoácidos
metabolismo del amonio, 494, 495f
no proteicos, 565-566
savia del floema, 374-375, 376f
transaminación, 495f, 497
Aminoetoxivinilglicina (AVG), 999, 1015
AMO-1618, 4895, 905, 906f
Amonificación, 487t
Amonio
absorción por las raíces, 147
ciclo del nitrógeno, 486, 488
conversión en aminoácidos, 494, 495f
efectos tóxicos, 490
intercambio catiónico, 140
reducción del nitrito, 492-493
ruta de la glutamato deshidrogenasa, 495f, 496, 497
solución de Hoagland, 124
AMP cíclico (cAMP), señalización del fitocromo, 753-757
Amplitud, de ritmos circadianos, 1090, 1091f
a-amilasa, 889
producción inducida por giberelinas, 925-936, 935f
Anabaena, 499, 499t, 501, 501f
Anafase, mitosis, 33f
Análisis
del suelo, 133-135
de tejidos vegetales, 134
Análisis cinético
de proteínas de transporte de membranas, 182-184
Ananas comosus, 1118
Anastomosis, 373
Anatomía de la hoja
absorción de la luz, 319-323
plantas C_3 y C_4, 289, 290f, 291
Ancimidol, 891
Angiospermas
elementos de la traqueida, 89
elementos del tubo criboso, 367t
respuestas del fitocromo, 712t
visión general, 2
Véase también Plantas con flores
Anhidrasa carbónica, 294f
Anillos heterocíclicos, 558
Anteraxantina, 253, 333
Antiflorígeno, 1114-1115
Antimicrobianos
isoflovaonoides, 554
metabolitos secundarios, 570
Antirrhium, 689
Antocianidinas, 551, 555
Antocianinas
carencias minerales, 127
color, 551-552
estructura, 552f
Antranilato, 817
AOA. Véase Ácido aminooxiacético
Aparato de Golgi
estructura y función, 18
provacuolas, 19
secreción de proteínas, 18, 19
síntesis de polisacáridos de la matriz, 600, 600f
Apertura estomática, 107-108
bomba de protones de la membrana plasmática de las células guarda, 779-782
ciclo de las xantofilas, 799
cinética y período de latencia de las respuestas a la luz del azul, 781-782
estimulación por la luz del azul, 774-779
fototropinas, 794
isomerización de las zeaxantinas, 796-799
osmorregulación de las células guarda, 782-784
reversibilidad por el azul, 797-799
zeaxantinas en las células guarda, 791-792
Ápice radicular
zonas de desarrollo, 664-666
análisis cinético del crecimiento, 692-693
células madre, 667-669
Apio, 548
Aplicación foliar, 137
Apoplasto, 85

mutantes *npq1* para la respuesta a la luz del azul, 792
pelos radicales y etileno, 1008
permeasa AUX1, 833f, 834
protección UV, 553
proteína de unión a auxinas (ABP1), 865-866
proteína SPA1, 750
proteína fosfatasas ABI, 1056
proteínas AHP, 982-983
proteínas anticongelantes, 1166
proteínas de choque térmico, 1160
proteínas de transporte de membrana, 173
raíces laterales inducidas por auxinas, 857-859
raíces tratadas con orizalina, 617f
receptores de citoquininas, 977-979
receptores de etileno, 1018, 1020
regulación de la expresión génica por etileno, 1022-1023
regulación de la expresión génica por la luz del azul, 773-774
regulación epigénica, 1110
respuestas del fitocromo, 724-725, 727f, 739
ramnogalacturonano II, 603
señalización célula a célula, 681-689
señalización hormonal, 683-686
sincronización del reloj, 1092-1093
síntesis de auxinas en el primordio foliar, 813-815
síntesis de glicerolípidos, 468-470
sobreexpresión de citoquininas, 960
transducción de señal de etileno, 1016-1024
transición sumidero-fuente en hojas, 400-401
transportador de auxinas (AUX1), 827-828
transportadores antiporte sodio/protón, 1180
ubiquitina inducida por estrés, 1148
5-Arabinano, 603f
Arabinogalactano, 603f
β-L-Arabinosa, 595f
Aráceas, 452
Arachis, 510
Arachis hypogaea, 1008
Árboles
competición por la luz, 326-327
curvas de respuesta a la luz, 331f, 332
micorrizas ectotróficos, 150
tasas de respiración de la planta entera, 457
transporte de agua a través del xilema, 91-95
Arbúsculos, 152
Arbusto salino, 1177
Arce sicomoro, 1085t
Arcilla, tamaño de partícula, 139-140
Área foliar, déficit hídrico, 1133-1134
Áreas cribosas, 365-366
Arena, partícula del suelo, 139-140
A-Rest, 891
ARFs. *Véase* Factores de respuesta a auxinas
Arnold, William, 217
Arnon, Daniel, 247
Arroz
absorción de nutrientes por la raíz, 147-148
adaptaciones a suelos saturados de agua, 1185, 1187
crecimiento inducido por giberelinas, 911-913
elongación del tallo y etileno, 1008
enfermedad de la «planta loca», 883
ensayo de hoja enana para giberelinas, 892f
genes controlados por estrés, 1150-1152
mutante *dwarf 1*, 932, 936
silvestre o indio, 1187
Asarum caudatum, 330f
Ascorbato peroxidasa, 255
Asignación
competición del tejido sumidero, 405-406
definición, 402
fuerza del sumidero, 406-407
procesos incluidos, 402

  regulación en las hojas fuente, 404-405
  relación fuente-sumidero, 408-409
Asimilación de nutrientes
  amonio, 494-498
  aspectos energéticos, 486-487, 521522
  azufre, 510-514
  cationes, 514-518
  definición, 485
  fijación del nitrógeno, 498-510
  formación de complejos con compuestos orgánicos, 486
  fosfato, 514
  hierro, 514-518
  nitrato, 490-493
  oxígeno, 518-521
Asparragina
  biosíntesis, 495f, 497
  represión de la reducción del nitrito, 493
  transporte por el xilema, 377
Asparragina sintetasa, 495f, 497
Aspartato, 291, 495f, 497
Aspartato aminotransferasa (Asp AT), 293t, 495f, 497
Atenuación
  de la clorofila, 233, 251
  no fotoquímica, 253-255, 333
ATP sintasa, 22, 171, 238
  de calcio, 187, 192
  de la membrana plasmática, 178, 186-189
  estructura, 251
  fosforilación oxidativa, 422, 445-447
  fotofosforilación, 247-251
  «modelo rotacional», 445
  protón-potasio, 178, 180
  reacciones luminosas de la fotosíntesis, 231-233
  sodio-potasio, 178
  vacuolar, 178, 189-191
ATP. *Véase* Adenosina trifosfato (ATP)
ATP sulfurilasa, 511
ATPasa. *Véase* ATP sintasa
Atriplex, 1177
  nummularia, 1175
  sabulosa, 1154-1155
  triangularis, 330f, 331f
Atropina, 559, 559t
Autocatálisis
  ciclo de Calvin, 276-277
  producción de etileno, 1001
  síntesis del fitocromo, 717-718
Autoensamblaje, de la pared celular primaria, 609-610
Autofosforilación, del fitocromo, 753-756, 754f
Autoinhibición, 188
Autótrofos, 269
Auxinas
  abscisión de la hoja, 851-852
  biosíntesis y metabolismo, 808-822
  cuantificación en muestras biológicas, 812-813
  definición, 812
  desarrollo de la yema floral, 861-862
  diferenciación vascular, 863-864
  dominancia apical, 857-859
  efectos sobre el desarrollo, 856-865
  elongación celular, 835-843
  epinastia, 1003-1005
  estructura, 811f, 812f
  formación de la raíz lateral, 859-861
  fototropismo, 843-846
  gravitropismo, 846-856
  morfogénesis en cultivos tisulares, 967
  primeras investigaciones experimentales, 808f, 810
  promoción de la biosíntesis de giberelinas, 907-910
  promoción de la producción de etileno, 998
  regulación génica, 866-870
  regulación por etileno en la zona de abscisión, 1011-1014
  rutas de transducción de señal, 865
  señalización célula a célula, 683-686
  transporte a larga distancia por el floema, 410-411

viabilidad vegetal, 808
Véase también Ácido indol-3-acético; Auxinas sintéticas
Auxinas sintéticas
estructura, 812f
usos comerciales, 864-865
Avellano europeo, 1040
Avena
degradación del fitocromo tipo I, 720
ensayo de curvatura del coleóptilo, 812-813
experimentos con coleóptilos, 808-810, 809f
nitrato y compuestos nitrogenados por la savia del floema, 494f
período de latencia del crecimiento inducido por auxinas, 837-838
respuestas del fitocromo, 712t
respuestas del fitocromo a bajas fluencias, 726-727
saponinas, 569
sección transversal de una hoja, 290f
Avena sativa
experimentos con coleóptilos, 808-810, 809f
sección transversal de una hoja, 290f
Avicenna, 462
Azadirachitina, 541, 542f
Azadiracta indica, 541
Azobacter, 499t, 502, 788
Azolla, 499, 499t, 501
desarrollo radical, 667
elementos del vaso, 671f
Azorhizobium, 499, 499t, 500t
Azospirillum, 499t, 502
Azúcares
carga del floema, 386-397
conjugados con giberelinas, 897
descarga del floema, 397-400
no reductores, 374-375, 376f
reductores, 376f
savia del floema, 374-375
Azúcar-nucleótido polisacárido glicosiltransferasas, 600
Azufre
diversidad de las funciones biológicas, 510-511
funciones bioquímicas en las plantas, 120t
niveles en los tejidos vegetales, 119t
pH del suelo, 137

B
BA. *Véase* Benciladenina
Bacillus, 499t
Bacteria
aeróbica, 499t, 502
anaeróbica, 1181-1182
anoxigénica, 227
daño por frío, 1169
fijación del nitrógeno, 499t, 500t, 502
fijadores de nitrógeno, 498, 499t, 500t
formación del nódulo, 502-504
producción de etileno, 992
purpúrea, 250f, 251
purpúrea fotosintética, 227
secreción de citoquininas, 952
Véase también Cianobacteria
Bacterioclorofila, 211f, 236
Bacteroides, 507
Bafilomicina, 189
Balsamina, 494f, 1012f
Banda de Caspary, 85-86, 147, 195, 533, 1176
Banda preprofásica (PPB), 32, 653
Bases «hipermodificadas», 951
Begonia, *Begonia semperflorens*, 191t
Beijerinckia, 499t
Benciladenina (BA), 197, 890, 949-950, 951-952
Beta maritima, 372
Beta verrucosa, 1085
Beta vulgaris
crecimiento estimulado por giberelinas, 890
floema, 387f, 389f
fuentes y sumideros, 371-372
pérdida de agua y ganancia de carbono, 1142f
placa celular, 35f

- Betaína, 503
- Betaína aldehído, 1147
- *Betula*
  - *papyrifera*, 1169
  - *pendula*, 1012f
- Bianual, vernalización, 1109
- Bicapa fosfolipídica, 8, 9f. *Véase también* Lípidos de membrana; Membranas
- Biloxi (variedad de soja), 1113
- Bioensayos
  - ácido abscísico, 1031
  - auxinas, 812-813
  - giberelinas, 891
- Biosíntesis de auxinas, en un tumor de corona, 954
- *Bipolaris maydis*, 460
- Bloques de agar
  - estudios de transporte de auxinas, 822-825
  - técnica de la difusión, 808-810, 809f
- Bombas, 175f
  - calcio, 192
  - dióxido de carbono, 288-289
  - electrógenicas, 178, 181
  - transporte activo primario, 177
  - *Véase también* Bombas de protones
- Bombas de protones, 181f
- ATPasas vacuolares, 189-191
  - en las membranas plasmáticas de las células guarda, 779-782
  - H^+-ATPasa de la membrana plasmática, 186-189
  - H^+-pirofosfatasa vacuolar, 191-192
  - regulación del fitocromo, 744
  - transporte de sodio, 1179-1180
  - *Véase también* Protón-ATPasas
- Bombas iónicas, 178
- Bonzi, 891
- Boro
  - carencia, 129
  - funciones bioquímicas en las plantas, 120t, 129
  - niveles en los tejidos vegetales, 119t
- Boussingault, Jean-Baptiste-Joseph-Dieudonné, 121
- Boysen-Jensen, P., 809f
- *Bradyrhizobium*, 499, 499t, 500t
- *Bradyrhizobium japonica*, 499t, 500t
- Brasicáceas
  - glucosinolatos, 564
  - ruta IAN, 815-816
- Brasinosteroides, 807
- *Brassica napus*, 339, 565
- *Brassica oleracea*
  - aclimatación al frío, 1167
  - depósitos de cera cuticular, 532f
  - crecimiento estimulado por giberelinas, 890
- Brefeldina A (BFA), 831
- Briofitas, 712t
- Brocha del desierto, 1097
- Bromileáceas, 1118
- *Bromus inermis*, 1170
- *Bryophyllum*, 1097, 1117
  - inducción indirecta, 1113-1114
- Buchanan, Bob, 279
- *Bulbochaete*, 16f
- Bünning, Erwin, 1101
- Bunsen, R, W., 727
- Butiril-ACP, 468, 469f
- BX-112, 896, 905, 906f

C

- Cacahuete, 510, 1008
- Cactus, 349-350
- Cadillo
  - nitrato y compuestos nitrogenados en la savia del xilema, 494f
- respuestas del fitocromo, 712t
  - *Véase también* Xanthium
- Cafeína, 559t
- Caída del rojo, en la fotosíntesis, 220
- Caja TATA, 749
- Calabaza, 410
- Calcio (Ca^{2+})
  - aumento inducido por ácido abscísico, 1050-1052

  - canales de la membrana plasmática de las células guarda, 1053-1054
  - carencia, 130
  - células vegetales, 169
  - complejos de coordinación, 515-516, 515f
  - estrés por calor, 1160-1162
  - funciones bioquímicas en las plantas, 120t, 130
  - gravitropismo radical, 855-856
  - inhibición de H^+-ATPasas, 1053-1054
  - liberación de oxígeno fotosintético, 239
  - niveles en los tejidos vegetales, 119t
  - PEP carboxilasa quinasa, 298
  - regulación de los niveles intracelulares, 192
  - rutas de transducción de señal, 745
  - señalización del fitocromo, 753
  - transducción de señal de giberelinas, 932-934
  - transducción de señal inducida por auxinas, 865
  - yeso, 141
  - *Véase también* Calcio citosólico
- Calcio citosólico
  - aumento inducido por ácido abscísico, 1050-1052
  - estrés por calor, 1160-1162
  - hipoxia relacionada con la muerte celular programada, 1186-1187
  - transducción de señal de la anoxia, 1189
- *Calendula officinalis*, 1113
- *Callitriche platycarpa*, 1008
- Callo, 863
- Callo de tabaco, 966f
- Calmodulina, 130, 753, 1161
  - transducción de señal de giberelinas, 933-934
- Calor específico, 56
- Calor latente de vaporización, 56
- Calosa, en las heridas, 369
- Calvin, Melvin, 270
- CAM perezoso, 350
- cAMP. *Véase* AMP cíclico
- Cambio de fase
  - ápice caulinar, 1081-1089
  - definición, 1081
  - de los ritmos circadianos, 1092
- Cambium, 863-864
  - suberógeno, 660
  - vascular, 5, 660
- Campanillas de Canterbury, 1097
- *Campanula medium*, 1097
- Canales, 181f
  - aniónicos lentos, 1053-1054
  - de agua, 186. *Véase también* Acuaporinas
  - de calcio, 176, 192
  - de cloruro, 182
  - de salida de cationes, 197-198
  - identificación de genes y clonación, 184
  - transportadores, 174-178, 180-181
  - visión general, 174-176
- Canales de potasio
  - de entrada de K^+, 176, 185
  - de salida de K^+, 176, 185-186
  - identificación y clonación de genes, 185-186
  - rectificadores de entrada de K^+, 176
  - rectificadores de salida de K^+, 176
  - regulación del fitocromo, 744-745
  - tipos, 176
- Canalización de la luz, 322
- *Canavalia ensiformis*, 566
- Canavanina, 565, 566, 567
- Caña de azúcar, 502, 890
- Caolinita, 140
- Capa de aleurona
  - estructura y función, 925-928, 926f
  - producción de a-amilasa inducida por giberelinas, 925-936, 935f
- Capacidad de campo, 80
- Capacidad de intercambio aniónico, 140
- Capacidad de intercambio catiónico (CEC), 140
- Capa de abscisión, 851, 1011
- Capa de hidratación, 55
- Capas L1/L2/L3, 657

desarrollo de la hoja, 661
destino celular, 678-679
Capilaridad, 57
Capsidiol, 573f
Carbamilación de la rubisco, 280-282
Carbohidratos
  ruta de floración, 1118, 1119f
  sustratos para la glicólisis, 425, 426f
Carbonil cianuro *m*-clorofenilhidrazona (CCCP), 780-781
Carbono
  inxorporación, 299
  isótopos en las rutas fotosintéticas, 350
  reacciones de fijación, 206
  reacciones de reducción, 223
Carboxilación, ciclo de Calvin, 270-272, 275f
Cardenólidos, 541-542
Carencias de nutrientes. *Véase* Carencias minerales
Carencias minerales
  análisis de suelos, 133-135
  análisis de tejidos vegetales, 134
  azufre, 128
  boro, 129
  calcio, 130
  cinc, 132
  cloro, 131
  cobre, 132
  dificultades en el diagnóstico, 125
  fósforo, 128
  hierro, 132
  magnesio, 130
  manganeso, 131
  molibdeno, 133
  movilización de nutrientes, 125-127
  níquel, 133
  nitrógeno, 127
  potasio, 129-130
  silicio, 129
  sodio, 131
  tratamiento, 137-138
Carga del elemento criboso, 386-388
  necesidad de energía metabólica, 389-390
  regulación, 392-393
  transportador simporte sacarosa/H^+, 389-393
Carga del floema, 379
  correlaciones con las familias vegetales y el clima, 395-397
  etapas, 386-388
  ruta apoplástica, 389-393, 395, 396
  ruta simplástica, 388, 388f, 393-395, 396
  transportador simporte sacarosa/H^+, 389-393
Carga del xilema, 195-198
β-Caroteno, 211f
Carotenoides, 551
  atenuación no fotoquímica, 253
  ciclo de las xantofilas, 333
  estructura y características, 211f, 212
  fotoprotección, 252-253
  terpenos, 536
  zeaxantina, 789-794
Castilleja chromosa, 1097
Casuarina, 499f
Catalasa, 285
Catharanthus roseus, 569
Caulescencia
  giberelinas, 886
  inhbición modificada genéticamente, 910-911
Cavitación, 58, 94, 95, 1143
CCCP. *Véase* Carbonil cianuro *m*-clorofenilhidrazona
Cdc2, 866
Cdec25, 965
CDKs. *Véase* Ciclina dependiente de proteína quinasas
Ceanthus, 499t
Cebada
  absorción de nutrientes por la raíz, 147-148
  células del parénquima del xilema, 197
  estimulación de la floración por la luz del azul, 1105
  estructura del grano, 926f
  gen *HvSPY*, 936
  nitrato y compuestos nitrogenados en la savia del xilema, 494f
Cebolla, 782

CEC. *Véase* Capacidad de intercambio catiónico
Cecropia obtusifolia, 733
Cedro salino, 1177
Celobiosa, 594, 595f
Células
  identificación de Robert Hooke, 1
  movimiento del agua, 66-68
Células intermediarias, 371, 395
  carga simplástica del floema, 393, 395-396
Células cribosas, 6f, 362, 367t
Células de compañía, 362, 365f
  asociación con los elementos del tubo criboso, 369
  señales a larga distancia del floema, 410
  tipos, 369-371
Células de compañía ordinarias, 369-371
Células de Kranz, 291
Células de la vaina del haz
  ciclo del carbono C_4, 289, 290f, 291-296
  flujo cíclico de electrones, 245
  granos de almidón, 301f
Células de transferencia, 370
Células en empalizada, 321
Células epidérmicas, 6f
Células fusiformes, 660
Células guarda
  apertura estomática, 107-108
  bombeo de protones a través de la membrana plasmática, 779-782
  características de la pared celular, 104, 106
  células anexas, 106
  ciclo de la zeaxantina y xantofila, 799
  cierre estomático hidroactivo, 1136-1137
  cierre estomático hidropasivo, 1137
  cierre estomático inducido por ácido abscísico, 1050-1061
  fotorreceptor de la zeaxantina de la luz del azul, 789-794
  osmorregulación, 782-784
  regulación de la resistencia estomática de la hoja, 104
  respuestas a la luz del azul, 774-786
  tipos, 104, 106
Células iniciales, 656
  musgos, 968
Células madre
  de la cofia-epidérmica, 669
  cortical-endodérmica, 668
  radiales, 660
  raíces, 667-669
Células motoras
  dorsales, 736, 744
  ventrales, 736, 744
Celulasa, 1012, 1012, 1014
Celulosa, 594
Celulosa sintasa, 597, 598f, 599f
Centeno, 1170
Centro quiescente, de las raíces, 146, 644, 668
Centrómeros, 32, 34 Centrosomas, 32, 34
Ceras, 464
  composición química, 532
  cutícula, 532, 532f
  funciones, 533
  partes en las que se encuentran, 529, 532
Cerezas, 191t
Cestrum nocturnum, 1097
3-Cetoacil-ACP sintasa, 468
  α-cetoglutarato, 284f
CF_0-CF_1, 251
cGMP. *Véase* GMP cíclico
Chailakhyan, Mikhail, 1112
Chara
  corriente citoplásmica, 34
  estudios de relación iónica, 169
Chalconas, 545f
Chenopodiáceas, 149, 294
Chenopodium, 1103
Chlamydomonas, 690
Chlamydomonas reinhardtii, 773, 774
Cholodny, Nicolai, 844
Chorella pyrenoidosa, 217
Chrisanthemum morifolium, 1085, 1097
Chromatium, 499t
Chumbera, 191t

- Cinética enzimática
  - mecanismos que le afectan, 278-282
  - proteínas tansportadoras, 177
  - visión general, 689, 691
- Cinetócoros, 34
- Ciperáceas, 294
- Ciruelo, 1169
- Cisteína
  - asimilación del sulfato, 511-514, 512f
  - síntesis de metionina, 514
- Cisternas, 18
- Citocromo
  - b_{559}, 236
  - hierro, 518
  - *c*, 442
  - *c* oxidasa, 441f, 442, 451-452
  - *f*, 241
  - P450, 520, 895
- Citocromo oxidasa, 563
  - cadena de transporte electrónico, 441f, 442
  - deficiencia de oxígeno, 1182
- Citoesqueleto, estructura y función, 30-36
- Citoquinesis, 32, 34
  - formación de la pared celular, 609-610
  - patrón de formación, 653-654
  - patrón radial de tejidos, 654-656
- Citoquinina oxidasa, 960-961
- Citoquininas
  - antagonistas, 950
  - aumento de la biosíntesis de etileno, 998
  - biosíntesis, 954-957
  - conjugados, 921
  - definición, 949
  - desarrollo del cloroplasto, 973-974, 973f
  - descubrimiento, 945, 946-947
  - diferenciación vascular, 863-864
  - dominancia apical, 858-859, 967
  - expansión celular, 974
  - formación de yema en musgos, 968
  - formas libre y conjugada, 951
  - formas predominantes, 948-949
  - funciones biológicas, 961-977
  - genes reguladores de la respuesta, 979-981
  - inducción de tumor en *Agrobacterium*, 954-957, 954f
  - mecanismos de acción a nivel celular y molecular, 977-984
  - metabolismo, 960-961
  - morfogénesis del cultivo tisular, 967
  - movilización de nutrientes, 972-973
  - regulación del ciclo celular, 962-967
  - secretada por microorganismos, 952-953
  - secretada por nemátodos, 953
  - senescencia de la hojar, 1009-1010
  - sintética, 950
  - sobreproducción, 976-977
  - transporte, 410, 958-960
  - tumores genéticos, 969-970
  - viabilidad de la planta, 808
- Citoquininas glucósidos, 960-61
- Citosol
  - biosíntesis de giberelinas, 893f, 894-896
  - concentraciones iónicas, 169-170
  - IAA, 822
  - procesos de transporte, 181f
  - síntesis de sacarosa, 303-304t, 304-306
- Citrato, 437, 437f
- Cítricos, 890
- Citrulina, 376f, 510f
- *Citrus*
  - hiperacidificación vacuolar, 191t
  - período juvenil, 1085t
- *Citrus aurantifolia*, 191t
- *Citrus limonia*, 191t
- *Citrus paradisi*, 191t
- Cizaña, 1088, 1105, 1118
- Cladodios, 350
- Climatérico, 459
- Climaterio, 1001
- Clorato, 185
- Cloro
  - carencia, 131
  - funciones bioquímicas en las plantas, 120t, 131
  - niveles en los tejidos vegetales, 119t
- Clorofila
  - *a*, como complejo de coordinación, 515f, 516

  a, complejos antena, 230-231
  a, espectro de absorción, 211-212
  a, estructura y características, 211f, 212
  a, hojas de sol y de sombra, 325
  a, ruta biosintetica, 259f
  b, complejos antena, 230-231
  b, estructura y características, 211f, 211-212
  b, hojas de sol y de sombra, 325
  c, 212
  d, 212
  P680, 231, 236
  P700, 231, 236, 245
  P870, 236
Clorofilas, 206
  absorción de luz, 319-323
  absorción y emisión de luz, 209-213
  atenuación, 236, 253
  estructura y características, 211f, 211-212
  excitación por la luz, 231
  hojas de sol y de sombra, 325
  membranas de tilacoides, 223-224
  rutas de biosíntesis y degradación, 258, 259f, 260
  terpenos, 536
Clorofilida *a,* 259f
Cloroplastos
  aminotransferasas, 497
  asimilación de nutriente, 520
  auxinas en, 822
  biosínteis de ácido abscísico, 1031-1035
  características semiautónomas, 25
  conversión a cromoplastos, 26-27
  desarrollo a partir de los protoplastos, 26
  desarrollo y citoquininas, 973-974, 973f
  endosimbiosis, 260
  estructura y función, 22, 23f
  fotorrespiración y ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono, 283, 284f, 285-286
  fotosistemas, 206
  genoma, 25, 256-261
  herencia no mendeliana, 257
  isozima desaturasa, 469
  membranas, 8, 22, 23f, 466
  movimiento y absorción de luz, 323-324, 788-789
  protección del calor, 335-337
  proteínas codificadas por el núcleo, 257
  proteínas en, 224-225
  realización de la fotosíntesis, 220-225
  rendimiento cuántico, 218
  ruta de difusión del dióxido de carbono, 341-344
  senescencia de la hoja, 695, 697
  similitudes en el flujo electrónico con la mitocondria y la bacteria purpúrea, 250f, 251
  síntesis de almidón, 301, 302t
  síntesis de glicerolípidos, 468-470
  transporte de protón y síntesis de ATP, 245
Cloroplastos de las células guarda
fotorreceptor de la zeaxantina, 789-794, 796-799
  fotosíntesis, 775-779
  granos de almidón, 782, 784
  osmorregulación de las células guarda, 783f
  transducción de señal, 789, 797-799
Clorosis, 127, 129, 130, 131, 133
Cloruro (Cl^-)
  despolarización de la membrana de las células guarda, 1053-1054
  exclusión radical, 1176
  flujos regulados por el fitocromo, 736, 744-745
  gradiente electroquímico a través de las raíces, 196f
  intercambio aniónico, 140
  liberación fotosintética de oxígeno, 239
  relaciones osmóticas de las células guarda, 782-784
Cloruro sódico, 141
Clostridium, 499t, 502
Cobalamina, 121
Cobalto, 121, 999
Cobertura proteica, 19
Cocaína, 559t

- *Cochliobolus heterostrophus*, 460
- Codeína, 559t, 560
- Coeficiente de difusión, 61
- Coenzima A (CoA), 436, 437f
- Cofia radical
  - gravitropismo, 849-851
  - redistribución lateral de las auxinas, 851-854, 853f
- Cohesión, 56
- Col/Cóleo
  - aclimatación al frío, 1167
  - carga simplástica del floema, 393
  - crecimiento estimulado por giberelinas, 886f, 890
  - meristemo del ápice caulinar, 658f
  - tipos de células del floema, 397
- Colchicina, 672
- Coleóptilos
  - arroz, 1187
  - bioensayos de auxinas, 812-813
  - crecimiento inducido por auxinas, 835-837
  - curvatura fototrópica estimulada por la luz del azul, 767-770
  - detección de la dirección de la luz, 770-771
  - fototropismo mediado por auxinas, 843-846
  - funciones especializadas, 843
  - gravitropismo, 843, 846-851
  - investigación reciente con auxinas, 809f, 810
  - período de latencia mínimo para el crecimiento inducido por auxinas, 837-838
  - transporte polar de auxinas, 823-825
- *Coleus bluemi*, 16f, 658f
- Columela, 644
  - células madre, 668
  - gravitropismo, 84-851
  - permeasa AUX1, 833f, 834
  - pH intracelular y respuesta gravitrópica, 855-856
  - redistribución lateral de las auxinas, 854-855, 854f
- Colza, 565
- Combustibles fósiles
- con isótopos del carbono, 350-351
- sulfato, 511
- *Commelina*, 552, 1048
- *Commelina communis*, 552
- Compensación de temperatura, 734, 1091
- Competencia
  - evocación floral, 1086-1089
  - vernalización, 1109-1110
- Competición
  - entre tejidos sumidero, 405-406
  - por la luz, 326-327
- Complejo antena, 216-218
  - canalización de la energía hacia el centro de reacción, 230, 230f
  - atenuación no fotoquímica, 253-254
  - diversidad, 230
  - estructura, 230-231
  - fotosistema I, 245
  - membranas de los tilacoides, 223-224
  - transferencia por resonancia, 228
- Complejo célula de compañía-elemento criboso
  - carga del floema, 386-397
  - señales a larga distancia por el floema, 410-411
- Complejo citocromo b_6f, 232, 241-243
- Complejo citocromo bc_1, 441f, 442
- Complejo del centro de reacción, 216-218
  - características de las clorofilas, 235-236
  - de las bacterias anoxigénicas bacterianas, 227
  - esquema en Z, 231-233, 232f
  - estructura del fotosistema I, 244f, 245
  - estructura del fotosistema II, 236, 237f, 238f, 239f
  - excitación de la clorofila y reducción del transportador de electrones, 231-235
  - fotoinhibición, 255
  - membranas de los tilacoides, 223-224
  - procesos reversibles, 234
- Complejo del poro nuclear, 11, 13f
- Complejo estomático, 106

Dahlia pinnata, 373
Dalia, 373
Daño por congelación
  bacterias relacionadas, 1169
  formación de cristales de hielo y deshidratación de protoplastos, 1165
Véase también Daño por frío
Daño por frío
  características, 1162
  composición lipídica de la membrana, 471-472
  cambios de las propiedades de la membrana, 1163-1165
  Véase también Daño por congelación
Daño por sal. *Véase* Estrés por salinidad
Darwin, Charles, 786, 808, 809f, 843
Darwin, Francis, 786, 808, 843
Datisca, 499t
DCMU, 246-247, 775
Dedalera, 541-542
Defensas y respuestas de defensa de las paredes celulares, 628, 629
  cutina, ceras y suberina, 530-533
  etileno, 1011
  producción, 534
  contra patógenos, 570-576
  muerte celular programada, 698-699
  Véase también Metabolitos secundarios
Deficiencia de oxígeno, 1180-1189
Déficit hídrico
  abscisión de la hoja, 1134-1135
  ajuste osmótico, 1140-1143
  aumento de la resistencia de la fase líquida al flujo de agua, 1143-1144
  cierre estomático inducido por ácido abscísico, 1137-1138
  crecimiento radical, 1135-1136
  definición, 1131
  disipación de la energía de la hoja, 1144-1146
  disminución del área foliar, 1133-1134
  engrosamiento de la cutícula, 1144
  inhibición de la fotosíntesis, 1138-1140
  niveles de ácido abscísico en tejido, 1034
  resistencia a la sequía, 1131-1132
  temperatura de la hoja y estrés por calor, 1153-1154
  transporte de ácido abscísico, 1035
  Véase también Estrés osmótico
Deisenhofer, Johann, 227
Delfidina, 552t
Densidad de fujo, 61
Densidad de flujo fotónico fotosintético (PPFD), 319
Derivados del ácido benzoico, 545f, 546, 547f
Derxia, 499t
«damp out», 737
Desacopladores de la fosforilación oxidativa, 447
Desacoplamiento del flujo de electrones, 246
Desarrollo de la hoja, 661
Desarrollo de la semilla, 649-651
  ácido abscísico, 1035
  acumulación de proteínas de reserva, 1038
  etapas del proceso, 1035
Desarrollo del estambre, 887
Desarrollo del fruto, auxinas, 862
Desarrollo del polen, 460
Desarrollo floral
  auxinas, 862
  iniciación del órgano, 1072
  meristemo de transición, 1071-1072
  regulación génica, 1074-1078
  visión general, 1069-1070
Descarga del elemento criboso, 397
Descarga del floema, 379, 397-400
Descomposición, pH del suelo, 141-142
Deshidratación
  daño por congelación, 1165
  resistencia al enfriamiento, 1167-1169
Deformación plástica de la pared, 624-625
Desmotúbulos, 40, 194
Desnitrificación, 487t
Deoxi azúcares, en las paredes celulares, 595f
Despolarización de membrana a largo plazo, 1053-1054
  mediada por la luz del azul, 773
  inducida por ácido abscísico, 1050-1054

Destino celular
  información posicional, 677-679
  señalización inducida por ligando, 682-683
Detectores fotoacústicos, 1000
Determinación, en la evocación floral, 1087-1089
Determinación del sexo, giberelinas, 887-888
Dhurrina, 563
Día largo
  duración crítica, 1096
  fotoperiodismo, 1093
Día subjetivo, 1092
Diacilglicerol (DAG), 463f, 470, 471
Diaheliótropos, 325
Diatomeas, 300
Dicamba, 812f
Diclorofenildimetilurea (DCMU), 246, 775
Dicotiledóneas
  células guarda, 106
  crecimiento del tallo inducido por auxinas, 835-837
  degradación del fitocromo tipo I, 720-721
  período de latencia en el crecimiento inducido por auxinas, 837-838
  sistema radical, 143, 144
  transporte de auxinas en los tallos, 837
Dictyostelium discoideum, 957
DIDS, 1053
Diferenciación celular, 669-672, 670f, 671f
  desarrollo foliar, 661
Difosfatidilglicerol, 466t, 469f
Difosfato (PP_i), 425, 426f, 511
Difosfato:fructosa-6-fosfato 1-fosfotransferasa, 428
Difusión, 61-62
  a través de la membrana, 164-173
  de vapor de agua fuera de las hojas, 99-100
  facilitada, 177
  potencial químico, 160-163
Difusión facilitada, 177
Digalactosildiacilglicerol, 466t, 469f
Digitalis, 542
Dihidroxiflavonoles, 545f
Dimetilalil difosfato (DPP), 537f, 538
Dineínas, 35
2,4-Dinitrofenol, 447
Dióxido de azufre, 511
Dióxido de carbono (CO_2)
  concentración atmosférica, 340-341
  efecto invernadero, 341
  efectos de la concentración sobre la respiración, 462-463
  inhibición de la fotoasimilación, 521-522
  inhibición del etileno, 999
  limitaciones de la fotosíntesis, 346-348
  pH del suelo, 141-142
  punto de compensación, 348
  resistencia estomática de la hoja, 103
  ruta de difusión a los cloroplastos, 341-344
  tasa de transpiración, 109
Dioxigenasa, 519, 519f
Disolventes, 55
Dispersión de la luz, 322
Distribución histológica, 658
Diterpenos, 537, 537f
Ditiotreitol (DTT), 791
Dittmer, H. J., 143
Diurón, 246
División celular
  continuada en células diferenciadas, 944-945
  cultivo de tejido, 945-946
  desarrollo de la planta, 943-943
  estereotípica, 652-654
  factores difusibles, 945
  giberelinas, 913-914, 915-916
  inducida por una herida, 944
  regulación por citoquininas, 962-964
Divisiones celulares anticlinales, 667
Divisiones periclinales, 678
  ápice de la raíz, 667
DNA mitocondrial (mtDNA), 450-451, 460
Doble mutante *phot1/phot2*, 794

Dolicoles, 539
Dominancia apical
  auxinas, 857-859
  citoquininas, 967
Dominios de respuesta a auxinas (AuxRDs), 868
Dominios MADS, 1075-1076
Dormición
  de embriones, 652
  de la semilla, 1038-1042
  etilleno, 1008
Dormición de la semilla
  ácido abscísico, 538-542
  embrión, 1039-1040
  impuesta por la cubierta, 1039
  liberación, 1040-1041
  primaria, 1040
  relación ABA/GA, 1041-1042
  secundaria, 1040
Dormina, 1029
Drosophila
  mutantes homeóticos, 1075
  proteínas de choque térmico, 1157
  proteínas de percepción de voltaje, 788
  sincronización del reloj, 1092-1093
DTPA, 125
Duración crítica del día, 1096
Duysens, Louis, 236

E
Echeveria, 1097
Echeveria harmsii, 1097
Echinochloa crugalli var. *Oryzicola*, 1187
Ecosistemas, disponibilidad de agua, 51-52
Ecuación de Goldman, 170
Ecuación de Nernst
  utilización para distinguir el transporte activo del pasivo, 168-170
  visión general, 166-168
Ecuación de Poiseuille, 62
Ecuación de van't Hoff, 64
Edad de la planta, evocación floral, 1089
EDTA, 125
Efecto acumulativo, en la fotosíntesis, 221
Efecto colador, 321
Efecto invernadero, 341
Efecto lente, 770
Efecto Pasteur, 430
Eficiencia cuántica, de la fotosíntesis, 218-219, 337-339
Uso eficiente del agua, 109
  metabolismo ácido de las Crasuláceas, 296-300
EGTA, 855
Eje dorsiventral, 662
  lateral, 662
  proximodistal, 662
Electronegatividad, 54
Elementos de respuesta
  a ABA (ABRE), 1151
  a auxinas (AuxRE), 868
  a la deshidratación (DRE), 1151-1152
  a las giberelinas (GAREs), 930, 1059
  al etileno (EREs), 1022-1023
Elementos cribosos
  áreas cribosas, 369-371
  células de compañía, 365-366
  estructura celular, 364-365
  tipos de células, 362
  transporte de azúcar, 363-368
Elementos CRT/DRE, 1172
Elementos de choque térmico (HSEs), 1160
Elementos de los vasos, 6f, 89, 91
Elementos del tubo criboso, 6f, 362
  áreas cribosas, 365-368
  calosa, 369
  características, 367t
  proteína P, 368-369
  respuesta a la lesión del tubo, 368-369
  Véase también Elementos cribosos
Elementos esenciales, 118-121
  carencias, 125-133
Elementos intercisternas, 18
Elementos reguladores que actúan en *cis*, 749
Elementos traqueales, 89
  diferenciación, 669-672, 670f
  diferenciación inducida por auxinas, 863-864
  muerte celular programada, 698-699

Elicitores, 574
Elongación celular
  auxinas, 834-843
  citoquininas, 974-975
  giberelinas, 913-914
Elongación del entrenudo
  citoquininas, 974-975
  giberelinas, 885, 913-914
Elongación del hipocotilo
  inhibición de los criptocromos, 786-788
  respuestas del fitocromo a la alta irradiancia, 727-728
Elongación del peciolo, 1008
Elongación del tallo
  etileno, 1008
  inhibición por criptocromos, 786-788
  inhibición por la luz del azul, 771-774, 795
Embolismos, 94
Embriogénesis, 339
  crecimiento del zigoto, 690-691
  establecimiento de las características típicas de la planta madura, 640-642
  etapas, 643-644
  patrón axial, 641-642, 643-645, 344f
  patrón radial, 642, 645-646
  señalización hormonal, 683-686
  síntesis de IAA durante el proceso, 818-819
  visión general, 639-641
Embrión, 638
  auxinas, 862
  dormición de la semilla, 1039-1040
  etapas del desarrollo, 642-643
  grano de cereal, 925-927
  octante, 642, 643f
  tolerancia a la desecación, 1037-1038
Emerson, Robert, 217, 220
Enanismo
  giberelinas, 883, 885-887
  producido por ingeniería genética, 910-911
Encamado
  por carencias minerales, 127, 130
  por giberelinas, 891
Encelia farinosa, 1157
Endodermis, 85, 86, 261, 646
Endoglucanasa, 597
Endopoligalacturonasa, 629, 630
Endosimbiosis, 260
Endospermo, 639
  auxinas, 862
  desarrollo, 643
  grano de cereal, 925-927
Endospermo de almidón, 925-927
Endotelina-1, 556
Energía libre, del agua, 64
Enfermedad de cola de látigo, 133
Enfermedad de la «planta loca», 882
Enfermedades
  defensas de las plantas, 570-576
  etileno, 1011
Enfriamiento
  H^+-ATPasa vacuolar, 191
  liberación de la dormición de la semilla, 1040-1041
Engelmann, T. W., 214
Enlaces *cis*, 8
Enlaces de coordinación, 515-516, 516f
Enlaces no covalentes, en la asimilación de cationes, 515-516, 515f, 516f
Enredadera de campanillas, 697f
Enrollado en ovillo, 32
Ensamblaje mediado por proteínas, de la pared primaria, 609-610
Ensayos de cambio de movilidad, 930
Entrenudo, 2
Envoltura de los cloroplastos, 223
Envoltura nuclear, 11, 12f
Enzima(s)
  de condensación, 468, 469f
  del ciclo del glioxilato, 27
  hidrolíticas, 21, 698
  málico, 293t, 294f
  málico NAD(P), 293t
  málico:NADP, 297
  reguladas por la luz, 279-280
Epidermis, concentración de la luz, 319-322
Epinastia
  de raíces hipóxicas, 1185

etileno, , 1003-1005, 1003f
9-*cis*-Epoxicarotenoide dioxigenasa (NCED), 1032f, 1033
Equilibrio, en oposición al estado estacionario, 167
Equisetáceas, 129
Eritrosa-4-fosfato, 273f, 276, 432
Erwinia herbicola, 1169
Escape de la sequía, 1131
Escherichia coli
  proteína cry1, 787
  proteínas sensoras de oxígeno, 788
  síntesis de etileno, 994
Esclereidas, 6f, 362, 611f
Escopolamina, 560
Escutelo, 926
Esferosomas, 29, 465-466
Esfingolípidos, 466
Espacio extracelular, 193
Espacio intermembranoso, mitocondrias, 435f, 436
Espacio perinuclear, 11
Espádice (inflorescencia), 452
Especies que ahorran agua, 1131
Especies que gastan agua, 1131
Especies reactivas del oxígeno (ROA), 571, 1050
Espectro de absorción, 207
  de pigmentos fotosintéticos, 212f
  del fitocromo, 715f
  fotorreceptores, 766-767
Espectro de acción, 214-215
  para el control de la floración en las plantas de día corto, 1103-1104, 1105f
  para el fototropismo estimulado por la luz del azul, 766-770
  para la reversibilidad azul-verde de la apertura estomática, 797-799
  respuesta del fitocromo a una alta irradiancia, 727-728
  respuesta del fitocromo a una baja fluencia, 727f
Espectro electromagnético, 207-209
Espectro solar, 208f
Espectrofotometría, 209
Espectrofotómetro, 207, 209f, 721
Espectroscopia de masas, 813
Espectroscopia por resonancia magnética nuclear (RMN), 1184
Espinaca. *Véase* Spinacia oleracea
Esporangióforos, 769, 770
Esquema en Z, 222, 222f, 231-233
Estado embrionario globular, 642, 643f
  descripción, 642
  patrón axial, 643-645
  patrón radial, 645-646
Estado embrionario de torpedo, 642, 643f, 645f, 646f
Estado estacionario, 167
Estado hídrico, 73-74
Estado quiescente, en el desarrollo de la semilla, 1035
Estados S, 238-239
Estallido oxidativo, 629
Estaquiosa, 376f, 394f, 395
Estatocitos, 848, 849f
Estatolitos, 848-851
Esterificación, de pectinas, 604
Esterilidad citoplásmica masculina, 460-461
Esteroles, 466, 539
Estímulo floral
  antiflorígeno, 1114-1115
  definición, 1070
  estudios con injertos, 1112-1113
  giberelinas, 887-888
  inducción fotoperiódica, 1102
  inducción indirecta, 1113-1114
  intentos fallidos para aislarlo, 1116-1117
  transporte por el floema, 1102-1103, 1117
Estomas, en plantas CAM, 298
Estrés
  aclimatación y adaptación, 1130
  congelación, 1162-1173
  déficit hídrico y resistencia a la sequía, 1131-1152
  definición, 1129

  - estrés por salinidad, 1173-1180
  - falta de oxígeno, 1180-1189
  - impacto sobre los rendimientos de los cultivos, 1129
- Estrés hídrico. *Véase* Déficit hídrico
- Estrés osmótico
  - expresión génica, 1147-1150
  - metabolismo ácido de las Crasuláceas, 1146-1147
- Estrés por calor
  - adaptación genética a la temperatura, 1154-1155
  - adaptaciones foliares, 1156-1157
  - calcio citosólico, 1160-1162
  - de la temperatura de la hoja y déficit hídrico, 1153-1154
  - estabilidad de membrana, 1155
  - inhibición de la fotosíntesis, 1154
  - proteínas de choque térmico, 1157-1160
  - temperaturas que causan la muerte de las plantas, 1153t
  - termotolerancia inducida, 1152
- Estrés por salinidad, 142
  - acumulación de sal en el suelo, 1173
  - efectos osmóticos y de iones específicos, 1175-1176
  - efectos sobre el crecimiento vegetal, 1175
  - estrategias de las plantas para evitarlo, 1176-1177
  - exclusión iónica, 1177-1178
  - irrigación, 1173, 1173-1174
  - transporte de sodio a través de la membrana plasmática y del tonoplasto, 1179-1180
- Estrés salino. *Véase* Estrés por salinidad
- Estricnina, 559, 559t
- Estroma
  - asimilación de nutrientes, 521-522
  - mecanismo quimiosmótico, 247-251
  - reacciones de reducción del carbono, 219, 223
- Estructura de lípidos, 466, 467f
- Estudios de patch clamp, 175
- Etanol, 429
- Etefón, 1015
- Etilenglicol, 993
- Etileno
  - abscisión regulada por auxinas, 1011-1014
  - catabolismo, 996
  - conjugación, 996
  - cuantificación, 1000
  - descubrimiento, 991-992
  - dormición, 1008
  - efectos fisiológicos y sobre el desarrollo, 1000-1016
  - estructura y propiedades, 992-993
  - evocación floral, 1009, 1118
  - expansión celular lateral, 1005-1006
  - factores que afectan a la producción, 996-998
  - formación del pelo radical, 1008-1009
  - formación de nódulos, 505-507
  - gancho apical, 1007
  - inducido por auxinas, 836-837, 865
  - inhibidores, 523
  - maduración del fruto, 997, 1000-1002
  - mecanismos celulares y moleculares, 1016-1024
  - organismos productores, 993-994
  - plantas acuáticas, 1008
  - raíces hipóxicas, 1184-1185
  - ruta biosintética, 994-996
  - senescencia foliar, 1009-1010
  - triple respuesta, 991, 1005-1006
  - usos comerciales, 1014-1016
- Etioplastos, 26, 26f, 973
- *Eucalyptus regnams*, 92
- Eucromatina, 13
- Evaporación
  - cutícula, 532-533
  - transporte por el xilema, 95-97
- Evitar la sequía, 1131
- Evocación floral
  - definición, 1070
  - edad de la planta, 1089
  - estímulo fotoperiódico, 1102-1107
  - estímulos externos e internos, 1080
  - etapas, 1086-1089

Factores de transcripción
    control del desarrollo, 674-676
    de cremallera de leucina, 750
    fitocromo, 749-750
        regulación de la expresión génica por ácido abscísico, 1058-1060
    regulación de los genes inducidos por frío, 1172
    regulación génica independiente de ABA, 1170
Factores de unión a la repetición de C (CBF), 1172
Factores Nod, 504-505
Factores que actúan en *trans*, 749
FAD. *Véase* Flavina adenina dinucleótido
Fagus sylvatica, 1085t
Familia de la calabaza
    forma activa de las giberelinas, 900
    ruta IAN, 815
    carga simplástica del floema, 393
Familia de la mostaza
    ruta IAN, 815-816
    respuestas del fitocromo, 712t
Familia de la piña, 1009, 1118
Familia de *Oxalis*, 736
Familia de proteínas RAB/LEA/DHN, 1170
Familia del plátano, 815
Familia génica
    AUX1/IAA, 867, 870
    CRY, 749, 1107
    GH3, 868
    LHCB, 737, 981
    para proteínas de transporte a través de membrana, 184-186
    regulación de las LHCB, 747
    SAUR, 868
Farnesil difosfato (FPP), 537f, 538
Farnesil transferasa, 1060
Fase, del ritmo circadiano, 1090, 1091f
Fase adulta
    cambio de fase, 1081-1082, 1085-1086
    características, 1086
FCCP, 447
Fd-GOGAT, 495f, 496
Fenilalanina, 543-546, 545f
Fenilpropanoides, 546
Fenoles
    alelopatía, 548
    biosíntesis, 543-546, 545f
    diversidad bioquímica, 546
    estructuras, 546
    flavonoides, 550-554
    fototoxicidad, 546, 548
    isoflavonoides, 554
    lignina, 549
    taninos, 554-557
Feofitina, 239-240
Fermentación
    alcohólica, 429
    del ácido láctico, 429
    del lactato, 1183
    en general, 424, 429, 1183-1185
Ferredoxina (Fd), 245
    asimilación del sulfato, 513
    nitrito reductasa, 492
    reducción del nitrógeno, 508
Ferredoxina-NADP reductasa (FNR), 245
Ferroquelatasa, 518
Fertilización, 134
Fertilizantes agrícolas, 117, 136-137
    aplicación foliar, 137
    auxinas sintéticas, 864-865
    compuestos, 136
    estrés por salinidad e irrigación, 1173, 1174
    estudios de nutrición mineral, 117
    giberelinas, 889-891
    impacto del estrés sobre los rendimientos de los cultivos, 1129
    lixiviación, 135
    mixtos, 136
    mutantes de respuesta a giberelinas, 923
    orgánicos, 137
    plantas sensibles y plantas tolerantes a la sal, 1175
    químicos, 136-137

  - rendimientos de soja y maíz, 1132t
  - tipos, 136-137
  - usos del etileno, 1014-1016
  - *Véase también* Cultivos vegetales
- Fe-S
  - centro A, 245
  - centro B, 245
  - centro X, 245
- FeS_R. *Véase* Proteína ferrosulfurada de Rieske
- Festuca alta, 561
- Fibra de cromatina de 30 nm, 12, 14f
- Fibra de vidrio, 614-615
- Fibras, 6f
  - floema, 362
- Fibrillas
  - anisotrópicas, 614
  - isotrópicas, 613-614
- Fick, Adolf, 60
- Ficoeritrobilina, 211f
- Fijación del amonio, 487t
- Fijación del carbono
  - ciclo de Calvin, 270-282
  - ciclo del carbono C_4, 289-296
  - ciclo C_2 de oxidación del carbono, 283-288
  - curvas de respuesta a la luz, 328-332
  - gradientes en las hojas, 344-346
  - metabolismo ácido de las Crasuláceas, 296-300
- Fijación del nitrógeno, 486-489
  - aspectos energéticos, 485-486
  - bacterias implicadas, 498-499, 499t, 500t, 501
  - carencia de cobalto, 121
  - carencia de molibdeno, 133
  - complejo enzimático nitrogenasa, 507-509
  - condiciones anaeróbicas necesarias, 499-502
  - formas de transporte de nitrógeno, 509-510
  - fotoquímica, 488
  - industrial, 487, 509
  - procesos, 486-489
  - simbiótica, 499-502
- Fijación del oxígeno, 518-519
- Fijadores facultativos de nitrógeno, 499t, 500t, 502
- Filamentos intermedios, 30, 31, 36
- Filodios, 1082
- Filotaxia, 663, 664f
  - alterna, 663, 664f
  - decusada, 663, 664f
  - en espiral, 663, 664f
  - opuesta, 663, 664f
  - verticilada, 663, 664f
- Fitina, 927
- Fitoalexinas, 554, 572
- Fitocromo A (phyA), 719-720
  - desarrollo de la plántula, 741-742
  - movimiento hacia el núcleo, 750-752
  - período de latencia, 724
  - respuestas a alta irradiancia, 730
  - respuestas a la luz continua del rojo lejano, 739-740
- Fitocromo B (phyB), 719-720
  - desarrollo de la plántula, 741-742
  - movimiento hacia el núcleo, 750-752
  - respuestas a alta irradiancia, 730
  - respuestas a la luz continua, 739-740
- Fitocromo bacteriano, 754f, 755-756
- Fitocromo C (phyc), 740
- Fitocromo D (phyD), 740
- Fitocromo E (phyE), 740
- Fitocromo PfrA, 720-721
- Fitocromo(s)
  - adaptabilidad de las plantas a los cambios en las condiciones luminosas, 730-734
  - autofosforilación, 753, 754f
  - bacteriano, 754f, 755-756
  - cambios conformacionales inducidos por la luz, 718
  - diferencia con las respuestas a la luz del azul, 765-767
  - dominios funcionales, 742-743
  - espectro de absorción, 715f
  - estructura y síntesis, 716-718
  - familia multigénica, 719
  - forma fisiológicamente activa, 715-716

- formas especializadas, 739-742
- fotoperiodismo, 1103-1104
- fotorreversibilidad, 713-715
- gancho apical, 1007
- interacción con otros fotorreceptores, 756-757
- interconversión Pr-Pfr, 713-715
- intermedios de vida corta, 714-715
- localización en tejidos y células, 721-723
- mecanismos celulares y moleculares, 743-757
- movimiento hacia el núcleo, 750-752
- propiedades fotoquímicas y bioquímicas, 711-721
- regulación de la expresión génica, 745-757, 755f
- regulación del potencial de membrana y del flujo iónico, 744-745
- respuestas de toda la planta, 723-730
- respuestas típicas de las plantas, 712t
- ritmos circadianos, 734-738
- rutas de transducción de señal, 752-757
- sincronización del reloj, 1092-1093
- síntesis de giberelinas, 734
- sobreexpresión, 742
- tipos, 720-721
- tuberización de la patata, 906

Fitocromobilina, 717-718

Fitoecdisonas, 541
Fitoferritina, 518
Fitómero, 660
Fitooncogenes, 957
Flavina adenina dinucleótido (FAD)
- cadena de transporte electrónico, 441
- ciclo del acido cítrico, 438
- estructura, 423f
- fotoliasas, 786, 787
- nitrato reductasa, 490
- reacciones redox, 422

Flavina mononucleótido (FMN), 421f
- cadena de transporte electrónico, 441
- fototropinas, 788, 795

Flavonas, 545f, 553-554
Flavonoides, 503
- antocianinas, 551-553
- como inhibidores del transporte de auxinas, 832-833, 852
- estructura, 550
- flavonas y flavonoles, 553-554
- grupos principales, 550
- raíces, 853

Flavonoles, 545f, 553-554
Flavononas, 545f
Flavoproteínas, 845
Floema, 6f
- diferenciación inducida por auxinas, 863-864
- flujo de masas, 69-70
- funciones, 361
- raíces, 143-147
- tipos de células, 362
- transporte, 159
- transporte a larga distancia de las moléculas de señalización, 410-411
- transporte de auxinas, 825, 833-834

Fruta de la pasión, 1163
Floración. *Véase* Desarrollo floral; Evocación floral
Flores
- con estambres, 887
- en borla, 887
- etileno, 1003f, 1015

Florígeno, 1112-1114
Fluencia, 725
Fluidez de la membrana, 8
Flujo de masas, 62
- agua en el suelo, 83
- floema, 69-70
- modelo de flujo de presión para el transporte por el floema, 379-386

Flujo de electrones
- cíclico, 245
- desacoplamiento, 246
- similitudes en cloroplastos, mitocondrias y bacterias púrpureas, 250f, 251

Flujo fotónico, curvas de respuesta a la luz, 328-332
Flujo pasivo, 164-165
Fluorescencia, 210
  rendimiento cuántico en cloroplastos, 218-219
FMN. *Véase* Flavina mononucleótido
Formación de hielo
  resistencia a la congelación, 1167-1169
  tolerancia a la congelación, 1166-1167
Fortalecimiento, durante la aclimatación al frío, 1167
Fosfatasas, 1055-1058
Fosfatidilcolina, 9f, 470-471
  membranas, 466t
  estructura, 463f, 467f, 469f
Fosfatidiletanolamina, 9f, 470-471
  estructura, 463f, 467f, 469f
  membranas, 466t
Fosfatidilglicerol, 463f, 469f, 9f, 470-471
Fosfatidilinositol, 466t, 469f, 9f, 470-471
Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP_2), 473
Fosfatidilserina, 469f
Fosfato
  intercambio catiónico, 140
  micorrizas, 149
  regulación de la respiración, 454, 456-457
  transporte mitocrondrial transmembrana, 447, 448f, 449

3'-Fosfoadenosina-5'-fosfosulfato (PAPS), 512f, 513
Fosfoenolpiruvato (PEP)
  ciclo del ácido cítrico, 439
  ciclo C_4 del carbono, 292, 293-294
  estructura, 427f
  glicólisis, 426f, 428, 431
  gluconeogénesis, 427
  metabolismo ácido de las crasuláceas, 297
Fosfofructoquinasa, 425, 426f
  dependiente de PP_i, 428, 430
  ligada a PP_i, 303t, 307
2-Fosfoglicerato, 427f
3-Fosfoglicerato, 305
  ciclo de Calvin, 271, 272, 273f, 274, 275f, 281, 284f
  ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono, 286
  estructura, 427f
  glicólisis, 425, 426f, 427
Fosfoglicerato quinasa, 273f, 274
Fosfoglicolato, 286
2-Fosfoglicolato, 283, 284f, 285-287, 519
Fosfoglicolato fosfatasa, 285t
Fosfoglucomutasa, 302t, 303t
Fosfoinositólidos, 473, 1055
Fosfolipasa C, 473
Fosfolípidos, 8, 9f
Fosfón D, 895
Fosforilación
  fitocromo, 753-756, 754f
  inducida por citoquininas, 983-984
  señal de transducción de giberelinas, 933
Fosforilación a nivel de sustrato, 426f, 427, 438
Fosforilación oxidativa
  asimilación de fosfato, 514
  genes, 450-451
  mecanismo, 443-449
  mecanismos de reducción del rendimiento de ATP, 453
  regulación, 454, 455-456
Fósforo
  carencia, 128
  funciones bioquímicas en las plantas, 120t, 128
  micorrizas, 149
  niveles en tejidos vegetales, 119t
  solución de Hoagland, 123
Fosforribuloquinasa, 273f
Fotoasimilación, 521-522
Fotoasimilado
  carga del floema, 386-397
  competición entre los tejidos sumidero, 405-406
  definición, 371
  descarga del floema, 397-400

  - asignación y reparto, 402-411
  - transporte de fuente a sumidero, 372-374
- Fotofosforilación, 247-251
- Fotoinhibición, 255, 337-339
  - crónica, 338
  - dinámica, 338
- Fotoliasa, 786-788
- Fotomorfogénesis, 709-711. *Véase también* Fitocromo
- Fotones, 207
- Fotooxidación, 822
- Fotoperiodismo
  - definición, 1080
  - fotorreceptores, 1103-1104
  - fotorreceptores de la luz del azul, 1107
  - hipótesis del reloj, 1100-1101
  - interrupción nocturna, 1099-1100
  - modelo de la coincidencia, 1101-1102
  - modificación de la floración por la luz del rojo lejano, 1105-1106
  - percepción del estímulo en la hoja, 1102
  - período oscuro, 1099, 1100
  - regulación de la biosíntesis de giberelinas, 906
  - ruta de floración, 1119, 1119f
  - tipos de plantas, 1095-1097
  - visión general, 1093-1095
- Fotoprotección, 252-253
- Fotoquímica, 210, 218-219
- Fotorreceptores
  - fotoperiodismo, 1103-1104
  - interacciones, 756-757
  - luz del azul, 786-794, 1107
  - *Véase también* Fitocromo
- Fotorrespiración
  - disminución de la eficiencia de la fotosíntesis, 286-287
  - posible función, 288
  - principales reacciones, 283-286
  - represión por el ciclo del carbono C_4, 294-296
  - represión por el metabolismo ácido de las Crasuláceas, 298
  - temperatura, 354
- Fotorreversibilidad, 713-715, 724
- Fotosideróforos, 517
- Fotosíntesis
  - biosíntesis y descomposición de la clorofila, 258, 259f
  - caída del rojo, 220
  - ciclo C_2 de oxidación del carbono, 283-288
  - ciclo de Calvin, 270-282
  - ciclo del carbono C_4, 289-296
  - complejos antena y del centro de reacción, 216-218
  - conceptos generales, 206-213
  - con isótopos del carbono, 350-351
  - curvas de respuesta a la luz, 328-332
  - daño por salinidad, 1176
  - demanda del sumidero, 407
  - disipación del exceso de energía luminosa, 333-335
  - distribución de la energía entre fotosistemas, 255-256
  - efecto acumulativo, 221
  - esquema en Z, 222, 222f
  - evolución, 260
  - experimentos clave para su comprensión, 213-222
  - factores limitantes, 316-317
  - genes de cloroplastos, 256-261
  - inhibición por déficit hídrico, 1138-1140
  - inhibición por estrés por calor, 1154
  - la luz promueve las reacciones químicas, 211-222
  - mecanismo de transporte de electrones, 231-247
  - medidas de la luz, 317-319
  - metabolismo ácido de las Crasuláceas, 296-300
  - organización del aparato fotosintético, 222-231
  - proteínas de los cloroplastos, 257
  - punto de compensación de la temperatura, 1154
  - reacciones de fijación del carbono, 206

  - reacciones del tilacoide, 206, 219
  - reacciones en el estroma, 219
  - regulación y sistemas de reparación, 251-255
  - rendimiento cuántico, 218, 329
  - respuestas a la temperatura, 352-355
  - respuestas al dióxido de carbono, 339-352
  - síntesis de sacarosa y almidón, 300-308
  - temperatura óptima de respuesta, 354
  - transpiración, 53
  - transporte de protones y síntesis de ATP, 245
  - visión general, 206
  - visión global de las reacciones químicas, 213
  - *Véase también* Fotosistema I; Fotosistema II
- Fotosistema I (PSI)
  - clorofila del centro de reacción, 235-236
  - esquema en Z, 231-233
  - estructura del centro de reacción, 244f, 245
  - flujo cíclico de electrones, 245
  - hojas de sol y de sombra, 325
  - localización en las membranas de los tilacoides, 225-227
  - reducción del $NADP^+$, 231, 245
  - relación respecto al fotosistema II, 226
  - reparto de la energía del fotosistema, 255-256
  - visión general, 222, 222f
- Fotosistema II (PSII)
  - atenuación no fotoquímica, 253-254
  - clorofila del centro de reacción, 235-236
  - esquema en Z, 231-233
  - estrés por calor, 1155
  - estructura del centro de reacción, 243
  - fotoinhibición, 255
  - fotoinhibición crónica, 338
  - fotosistema de la bacteria fotosintética anoxigénica, 227
  - hojas de sol y de sombra, 325
  - localización en las membranas de los tilacoides, 225-227
  - oxidación del agua, 231-233, 237-239
  - protección frente a las especies reactivas del oxígeno, 255
  - proteínas D, 225f, 236
  - proteínas del complejo de captura de la luz II, 230
  - relación respecto al fotosistema I, 225-227
  - reparto de la energía del fotosistema, 255-256
  - visión general, 222, 222f
- Fototoxicidad, 546-549
- Fototropinas
  - fototropismo, 788
  - movimientos de los cloroplastos, 788-789
  - unión de la flavina mononucleótido, 795
- Fototropismo
  - definición, 843
  - fototropinas, 788
  - plantas que detectan la dirección de la luz, 770-771
  - primeras investigaciones, 808-810, 809f
  - redistribución lateral de las auxinas, 843-846
  - respuestas a la luz del azul, 767-770
- *Fragaria grandiflora*, 88f
- Fragmoplasto, 34, 608, 653
- *Frankia*, 499, 499t
- *Fraxinus excelsior*, 363f, 1040
- Frecuencia, de la luz, 207
- Fresas, 88f, 862
- Fresno, 363f
- Fresno europeo, 1040
- *Fritillaria assyriaca*, 11
- Fructosa
  - estructura, 376f
  - glicólisis, 425, 426f
- Fructosa-1,6-bisfosfatasa, 273f, 274t, 279, 302t, 305, 307, 405, 428
- Fructosa-1,6-bisfosfato, 306, 307f
  - ciclo de Calvin, 273f, 276
  - estructura, 427f
  - gluconeogénesis, 428
  - regulación de la glicólisis, 430, 456f
  - síntesis de almidón, 300f, 301

- Fructosa-2,6-bisfosfatasa, 305, 307
- Fructosa-2,6-bisfosfato, 305, 306, 307
- Fructosa-6-fosfato, 305, 306, 307
  - ciclo de Calvin, 273f, 276
  - estructura, 427f
  - gluconeogénesis, 428
  - regulación de la glicólisis, 430, 456
  - ruta oxidativa de las pentosas fosfato, 431-432, 433f
  - síntesis de sacarosa, 304
- Fructosa-6-fosfato-2-quinasa, 307
- Fructosa-6-fosfato fosfotransferasa, 305
- Frutas sin semillas, 864
- Frutos
  - partenocarpia, 864
  - climatéricos y no climatéricos, 1001, 1002t
  - hiperacidificación vacuolar, 191
- Fuentes, 371-372
  - carga del floema, 379
  - regulación de la distribución, 404-405
  - señalización a larga distancia, 410-411
  - transición de sumidero a fuente en las hojas, 400-401
- Fuerza de cohesión, 56
- Fuerza de los fertilizantes, 136
- Fuerza del sumidero, 406-407
- Fuerza protón motriz, 248
  - transporte activo secundario, 178-179, 179f, 180-182
- Fuller, Buckminster, 850
- Fumarato, 438
- *Funaria hygonometrica*, 968
- 6-Furfurilaminopurina, 947
- Fusicocina, 624, 781, 796, 840

G

- GA. *Véase* Giberelinas
- GA-20-oxidasa, 893f, 896, 903f, 905, 906
- GA-2-oxidasa, 893f, 896, 902, 902f
- GA-3-oxidasa, 896, 902, 902f
- GA-3β-hidrolasa, 899
- GACC, 996
- Galactano, 592
- Galactolípidos, 463f
- β-D-Galactosa, 595f Galactosilglicerolípidos, 9f ácido α-D-galacturónico, 595f
- Ganchos apicales, etileno, 1007
- Gane, R., 991
- Garner, Wigntman, 1095
- Gas de hulla, 991
- Geles pécticos, 604, 606
- Gen
  - *ABH1*, 1060
  - *ABP1*, 865-866
  - *ABSCISIC ACID INSENSITIVE 3 (ABI3)*, 652
  - *AGAMOUS (AG)*, 1075, 1076, 1077, 1121
    - *AGAMOUS-LIKE 20 (AGL20)*, 1074, 1119f, 1121
  - *APETALA1 (AP1)*, 1074, 1075, 1076, 1077, 1121
  - *APETALA2 (AP2)*, 1074, 1075, 1076, 1077, 1121
  - *APETALA3 (AP3)*, 1075, 1076, 1077, 1121
  - *ASYMETRIC LEAVES 1 (ASY1)*, 680
  - *BRI1*, 676
  - *CCA1*, 747, 748-749
  - *Cdc2*, 965
  - *CKI1*, 977-979,
  - *CONSTANS (CO)*, 1119, 1119f
  - *CRE1*, 978-983
  - *CTR1*, 1024
  - *CYCD3*, 965
  - *DEFICIENS*, 1075
  - *EIN2*, 1022, 1024, 1060-1061
  - *ERA1*, 1060
  - *ERA3*, 1060
  - *ERF1*, 1023
  - *ETHYLENE INSENSITIVE 2 (EIN2)*, 1060-1061
  - *ETR1*, 1017, 1018, 1019, 1019, 1020
  - *ETR1-1*, 1012
  - *FIERY*, 1061
  - *FLO*, 689

  - *FLORICAULA*, 1074
  - *FLOWERING LOCUS C (FLC)*, 1110, 1111f, 1120
  - *FUSCA3*, 652
  - *GA2ox*, 910-911
  - *GA3ox*, 910-911
  - *GA20ox*, 910-911
  - *GAI*, 919, 920, 921-922, 923-925
  - GA-*MYB*, 930-931
  - *GNOM*, 647, 683-685
  - *GSA*, 773-774
  - *HOBBIT* (*HBT*), 649-651
  - *HOOKLESS*, 1007
  - *HvSPY*, 936
  - *ipt*, 955, 957, 962, 967, 971-972, 975, 976
  - *IPT*, 957-958
  - KN1, 674-676, 688f, 689
  - *KNOLLE*, 654-656
  - *LEAFY (LFY)*, 1074, 1120, 1121
  - *LEAFY COTYLEDON 1 (LEC1)*, 652
  - *LHY*, 747, 748-749
  - marcador *DR5*, 868
  - *MONOPTEROS (MP)*, 647, 683, 685
  - *MYB*, 930-931
  - PHYB, 738
  - *PIN1*, 684-686
  - *PISTILLATA1 (P1)*, 1075, 1121
  - *PR1*, 981
  - *psbD*, 773
  - *RAN1*, 1019
  - *RCN1*, 833
  - *RD29*, 1151
  - *RGA*, 919, 920, 921-922, 923-925
  - *SCARECROW (SCR)*, 649, 686, 688
  - *SHOOTMERISTEMLESS* (*STM*), 649, 675, 679-680, 962
  - *SHORT ROOT (shr)*, 649, 686-688
  - *SLN1*, 979
  - *SOS1*, 1180
  - *SOS2*, 1180
  - *SOS3*, 1180
  - *SPINDLY (SPY)*, 923, 923-925
  - *SSU*, 981
  - *TOC1*, 748-749
  - *VIVIPAROUS-1 (VP-1)*, 1059
  - *VP1*, 1059
  - *WUSCHEL (WUS)*, 681, 682-683

Genes
  - *ARR*, 979-981, 983-984
  - *ARR* Tipo A, 979, 981, 983-984
  - *ARR* Tipo B, 979, 983-984
  - *ABA-INSENSITIVE (ABI)*, 652, 1042, 1056, 1057, 1059
  - *AHK*, 979
  - asociados a la senescencia (SAGs), 698
  - *avr*, 574
  - catastrales, 1074
  - *CLAVATA (CLV)*, 676, 677, 677f, 681
  - *cms*, 460-461
  - de avirulencia, 574
  - de factores de transcripción, 674-676
  - de identidad del meristemo, 1074-1074
  - de identidad de los órganos florales, 1075-1076
  - «del reloj», 748
  - de nodulación, 503
  - dependientes de ABA, 1152
  - homeobox, 674
  - homeobox similares a *KNOTTED1*, 675
  - homeóticos, genes de identidad floral, 1074-1075
  - independientes de ABA, 1152
  - inducidos por un estrés por frío, 1171
  - *KNAT*, 675, 679, 962
  - *KNOX*, 675, 679
  - MADS box, 674, 1075
  - *NIT*, 816
  - *Nod*, 503
  - nodulina (nod), 503
  - PHY, 719-721, 742
  - *R*, 574
  - RBCS, 746
  - reguladores de las respuestas, citoquininas, 979-981
  - regulados por auxinas, 866-868
  - regulados negativamente por la senescencia (SDGs), 698
  - *SIG*, 773

Genes de respuesta al estrés
  estrés osmótico, 1147-1150
  inducidos por auxinas, 867-868
  regulación dependiente e independiente, 1151-1152
Genes de respuesta secundaria, genes tardíos, 746
  inducidos por auxinas, 867, 868
  para la α-amilasa, 930
Genisteína, 829f
Genoma nuclear, 10
Genomas, y estrés, 1150-1152
Geranil difosfato (GPP), 537f, 538
Geranilgeranil difosfato (GGPP), 537f, 538, 893t, 894
Germinación. *Véase* Germinación de la semilla
Germinación de la semilla
  auxinas conjugadas, 820
  desarrollo de los plastos, 26
  etileno, 1008
  fitocromos, 712f, 738, 739-742
  giberelinas, 888-889
  metabolismo de lípidos, 473, 474
  oleosomoas, 29
  regulación por la luz, 903-904
  proporción R/FR, 731-732
Germinación precoz, 1033f, 1044
Gibberella fujikuroi, 882
ent-Giberelano, 884
Giberelinas (GA)
  aplicaciones comerciales, 889-891
  biosíntesis y metabolismo, 891-911
  cadena de transducción de señal, 925-936
  cambio de fase, 1086
  conjugados, 897
  descubrimiento, 882
  división celular, 913-914, 915-916
  efectos sobre el crecimiento y el desarrollo, 884-891
  elongación celular, 913-914
  enanismo producido por ingeniería genética, 910-911
  estructura, 882-884
  expresión floral, 1088-1089, 1120
  forma biológicamente activa, 897-898
  GMP cíclico, 753
  inducción de la producción de la ?-amilasa, 925-936, 935f
  medida en plantas, 891-892
  niveles endógenos correlacionados con la altura, 898-900
  regulación del fitocromo, 746
  relación ABA/GA y la dormición de la semilla, 1041-1042
  terpenos, 536
  transporte, 900
  transporte a larga distancia por el floema, 410-411
  visión general, 881
Giberelina A$_1$ (GA$_1$)
  actividad biológica, 897-898
  auxinas, 908-910
  evocación floral, 1117-1118
  identificación, 882
  niveles endógenos relacionados con la altura, 898-900
  regulación de la biosíntesis por el fotoperíodo, 906
  regulación de la biosíntesis por la luz, 903-904
  tuberización de patata, 906
Giberelina A$_3$ (GA$_3$), 900, 928, 931
Giberelina A$_4$ (GA$_4$), 900
Giberelina A$_9$ (GA$_9$), 907
Giberelina A$_{12}$ (GA12), 884, 893t, 894
Giberelina A$_{20}$ (GA$_{20}$), 895, 896, 897, 906, 922-923
Giberelina A$_{53}$ (GA$_{53}$), 893t, 894
Giberelina glucósido, 897
Gimnospermas
  células cribosas, 367t
  elementos de las traqueidas, 89
  respuestas del fitocromo, 712t
  transporte por el floema, 386
  visión general, 2
Girasol, 541f
  concentraciones de ácido abscísico, 1034

  contenido en xantofilas, 334f
  efectos del estrés hídrico, 1139f
  nitrato y compuestos nitrogenados en la savia del xilema, 494f
Glicanos con enlaces N, 18
Gliceolina, 573f
Gliceraldehído-3-fosfato
  biosíntesis de terpenos, 537f, 538
  ciclo de Calvin, 270, 271, 274, 275, 275f, 276
  estructura, 427f
  glicólisis, 425, 426f
  ruta oxidativa de las pentosas fosfato, 431-432, 433f
Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa
  ciclo de Calvin, 273f, 275
  glicólisis, 425, 426f
  expresión inducida por estrés, 1148
Glicerato, 283, 284f, 285-286
Glicerato quinasa, 285t
Glicerofosfolípidos, 466, 467f
Gliceroglucolípidos, 466, 467f
Glicerol, 8, 9f, 463f
Glicerolípidos
  estructura, 463f, 469f
  polares, 464, 466
  síntesis, 468-471
  tipos, 464
Glicina, 284f, 285
Glicina betaína, 1141
Glicina descarboxilasa, 285t
Glicofitas, 1175
Glicolato, 283, 284f, 285-286
Glicolato oxidasa, 285
Glicólisis
  asimilación de fosfato, 514
  fosforilación a nivel de sustrato, 426f, 427
  gluconeogénesis, 426f, 427
  plantas y animales, 424
  reacciones, 424-425, 426f
  regulación, 430, 454, 456-457
  relación con otras rutas, 456f
  rutas fermentativas, 424, 429
  visión general, 419-424
Glicoproteínas unidas a N, 18
Glifosato, 543
Glioxilato, 283, 284f, 285, 474f, 475-476
Glioxilato:glutamato aminotransferasa, 285t
Glioxisomas, 27, 473, 474f, 475-476
Gloethece, 502
Glucanasas, 626-627, 628
Glucanos, 592, 593, 630
Glucanos entrecruzados, 593
Glucomananos, 593, 602
Gluconeogénesis, 426f, 427
Glucoproteína, 18
Glucoproteína rica en hidroxiprolina (HRGP), 606
Glucosa, 595f
  conjugados de citoquininas, 960-961
  estructura, 376f
  β-D-Glucosa, 595f Glucosa-1-fosfato, 304, 305 Glucosa-6-fosfato, 305
  estructura, 427f
  glicólisis, 425, 426f
  regulación de la PEP carboxilasa, 298
  ruta oxidativa de las pentosas fosfato, 431-432, 433f
Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, 434
Glucosidasas, 563, 610, 961
Glucósidos
  cianogénicos, 563-565
  citoquininas, 949
  conjugados de citoquininas, 960-961
  del aceite de mostaza, 564
Glucosil, 595f
Glucosilación, proteínas estructurales de la pared, 606
Glucosilglicéridos, 8
Glucosinolatos, 564-565
Glucuroarabinoxilanos, 592-593, 602
Glutamato, 284f, 495f, 496
Glutamato descarboxilasa (GAD), 1161-1162
Glutamato deshidrogenasa, 495f, 496, 497
Glutamato 1-semialdehído aminotransferasa (GSA), 773, 774

Glutamato sintasa, 495f, 496
Glutamina
  biosíntesis de asparragina, 495f, 496
  estructura, 376f
  represión de la nitrito reductasa, 493
  transporte por el xilema, 377
Glutamina:2-oxoglutarato aminotransferasa (GOGAT), 495f, 496
Glutamina sintetasa, 494, 495f
Glutatión, 513
Glutatión-S-transferasas (GSTs), 868
Glycine max
  estrés hídrico inducido por la posición de la hoja, 598, 599f
  formas de transporte de nitrógeno, 509-510
  período de latencia del crecimiento inducido por auxinas, 837-838
  período oscuro, 1099
  rhizobia, 499t, 500t
  senescencia monocárpica, 696f
  transferencia de fotoasimilado, 374
  Véase también Soja
GMP cíclico (cGMP)
  señalización del fitocromo, 753
  transducción de señal de giberelinas, 932-934
Gnetales, 89
Gomphrena, 290f
Gotas de rocío, 88
Gradiente electroquímico, transporte secundario activo, 178-179, 179f, 180-182
Gradiente de concentración, difusión, 60, 60f
Gradiente iónico, 20
Gradiente de luz, 770
Gradientes de presión
  modelo de flujo de presión de el transporte del floema, 379-386
  transporte por el xilema, 91-92
Gramíneas, 294
Grana, 23f, 24
Granadilla, 1163
Granos de almidón, 301f
Granos de cereal
  estructura del grano, 925-927, 926f
  mutantes de respuesta a giberelinas, 922
  producción de a–amilasa inducida por giberelinas, 925-936, 935f
Granum, 23f, 24
Grasas
  componente de los ácidos grasos, 465
  energía almacenada, 464
  reserva de carbono, 463-464
Grava, 139
Gravedad, potencial hídrico, 66
Gravitropismo
  definición, 843
  estatolitos, 848-851
  raíces, 143-145
  redistribución lateral de las auxinas, 846-848
Gravitropismo radical
  hipótesis almidón-estatolito, 848
  modelo de la tensegridad, 850-851
  proteína de distribución PIN3, 854-855, 854f
  redistribución lateral de las auxinas, 851-854, 856
  segundos mensajeros, 855-856
Guerra de Vietnam, 1013
Guías de néctar, 553
Guisante
  altura de la planta y giberelinas, 897-898
  células de compañía, 370f
  deficiencia de oxígeno, 1181
  formas de transporte de nitrógeno, 509-510
  nitrato y compuestos nitrogenados en la savia del xilema, 494f
  regulación de los genes *LHCB*, 737
  respuestas del fitocromo, 712t
  rhizobia, 499t, 500t
  transporte y acumulación de citoquininas, 959-960
Guisante del sur, 510
Gunnera, 499, 499t, 502
Gutación, 88

H

- H^+-ATPasas. *Véase* Protón-ATPasas
- H^+-pirofosfatasa vacuolar. *Véase* Protón-pirofosfatasa vacuolar
- Haba, 346
  - apertura estomática estimulada por la luz, 774-779
  - bombeo de protones desde la membrana plasmática de las células guarda, 779-781
  - formas de transporte de nitrógeno, 509-510
  - H^+-ATPasas, 391
  - nitrato y compuestos nitrogenados en la savia del xilema, 494f
  - transporte por el floema, 383f
  - *Véase también* Judía; Alubia; *Vicia faba*
- Haberlandt, Gottlieb, 927, 945
- Habichuelas, 883
- *Haemophilus influenzae*, 173-174
- Halofitas, 74, 142, 1175, 1174f
- Hatch, M. D., 291
- Haya europea, 1085t
- *Hedera helix*, 678, 678f, 887
  - fases juvenil y adulta, 1082f, 1084
- Helecho, 712t
- Helechos, terpenos, 541
- *Helianthus agnus*, 334f, 1139f
- Heliotropismo, 325
- Hemicelulosas
  - autoensamblaje, 609-610
  - degradación, 628
  - estructuras, 601f
  - microfibrillas de celulosa, 599
  - paredes celulares primarias, 592f, 593, 601-602
- Hemo
  - complejo citocromo b_6f, 241-243
  - hierro, 518
  - nitrato reductasa, 490
  - tipo b, 239, 239f
  - tipo *c*, 239, 239f
- Herbáceas
  - alcaloides de los simbiontes fúngicos, 561-562
  - asimilación de hierro, 516-518
  - células guarda, 106
  - fijación del nitrógeno simbiótico, 502-504
  - meristemo intercalar, 659
  - ruta IAN, 815-816
- Herbicidas
  - bloqueo del flujo de electrones fotosintéticos, 246
  - ruta del ácido siquímico, 543
- Herbívoros
  - alcaloides, 559, 560
  - lignina, 549
  - proteinas que inhiben la digestión, 566
  - taninos, 554-557
- Herencia no medeliana, 257
- Heridas, y síntesis de etileno, 994
- Heterocistos, 502
- Heterocromatina, 13, 14f
- Hexoquinasa, 425, 426f
- Hexosa fosfato, 425, 426f
- Hexosa fosfato isomerasa, 302t, 303t
- Hexosas, en las paredes celulares, 595f
- Híbrido de maíz, esterilidad citoplásmica masculina, 460
- Hidátodos, 88, 814-815
- Hidrocarburos, emisiones vegetales, 337
- Hidrogenasa, 509
- Hidrólisis, de las paredes celulares, 628-62
- Hidropónicos, 121
- Hidroquinonas, 243
- Hidroxinitrilo liasa, 563
- Hidroxipiruvato, 284f, 286
- Hidroxipiruvato reductasa, 285t
- Hidroxiprolina, 519, 519f
- Hidroxipropionato, 278
- Hiedra inglesa, 678, 678f, 887
- fases juvenil y adulta, 1082f, 1084
- Hierro
  - carencia, 132
  - funciones bioquímicas en las plantas, 120t, 132
  - niveles en tejidos vegetales, 119t
  - solución de Hoagland, 123-124
- Hifas, 150

Hill, Robert, 219
Hiperacidificación vacuolar, 191
Hipocotilos
    diferencia con las respuestas mediadas por la luz del azul y del fitocromo, 771
    gen *MONOPTEROS*, 647-649
    gravitropismo, 846-851
    mutantes del fitocromo, 716
    percepción de la dirección de la luz, 770-771
Hipodermis, 84
Hipófisis, 645, 651
Hipótesis del almidón-estatolito de gravitropismo, 850
Hipoxia
    adaptaciones de las raíces, 1185-1186
    daño a los tallos, 1184-1185
    H^+-PPasa vacuolar, 191
Hippuris vulgaris, 1082
HIRs. *Véase* Respuestas a alta irradiancia
Histéresis térmica, 1171
Histidina quinasa, receptores de etileno, 1016-1019
Histidina quinasa bacteriana de dos componentes, 1017-1019
Hoagland, Dennos R., 123
Hojas
    abscisión, 851-852
    absorción de la luz, 319-325
    adaptaciones al calentamiento excesivo, 1156-1157
    adaptaciones al sol y a la sombra, 322f, 325-326
    ajuste osmótico, 1141-11-43
    aplicación foliar de fertilizantes, 137
    asimilación del sulfato, 513
    bacterias liberadas durante el daño por congelación, 1169
    biosíntesis de giberelinas, 900
    curvas de respuesta a la luz, 328-332
    destino celular e información posicional, 677-679
    diaheliotrópicas, 1146
    disipación de la energía, 333-335, 1144-1146
    distribución de rubisco, 346
    epinastia, 1003-1005, 1003f
    estrés hídrico, 1133-1143, 1144, 1145f
    estructura general, 3f
    evaporación del agua y transporte por el xilema, 95-97
    expansión celular y citoquininas, 974
    factores que afectan a las propiedades fotosintéticas, 346
    formas de enfrentarse al calor, 335-337
    fotoinhibición, 337-339
    función, 4
    gradientes de asimilación de carbono, 344-346
    grosor de la cutícula, 1144
    hiperacidificación vacuolar, 191t
    inducción indirecta de la floración, 1113-1114
    movimiento del cloroplasto, 323-324
    movimientos nictinásticos, 734-738, 744
    nerviación, 95, 97
    paraheliotrópicas, 1146
    percepción del estímulo fotoperiódico, 1102
    producción de etileno, 994
    pubescencia, 1146
    redistribución del ácido abscísico, 1035
    regulación de la temperatura, 52, 56
    resistencia de la capa de aire estacionaria, 101-103
    resistencia estomática, 102, 103-109
    ruta de difusión del dióxido de carbono, 341-344
    ruta del agua, 99f
    seguimiento solar, 324
    senescencia, 695-699
    síntesis de auxinas, 813-815, 820
    síntesis y emisión de isopreno, 337
    síntomas de las carencias minerales, 127-133
    transición de fuente a sumidero, 400-401
    transpiración, 99-109

Hojas de sol, 325-326
  ciclo de las xantofilas, 333-335
  punto de compensación de la luz, 328
  síntesis de isopreno, 337
Holoproteína, en fitocromo, 716, 718
Homogalacturonano, 601f, 602
Hongos
  producción de etileno, 994
  respuestas de defensa de las plantas, 629
Hooke, Robert, 1
Hordeum vulgare. *Véase* Cebada
Hormonas
  receptores, 807
  savia del floema, 375
  transporte a larga distancia por el floema, 410-411
  visión general, 807-808
Hormonas animales, 807
Huber, Robert, 227
Humus, 80
Huso mitótico, 32, 33f
Hyoscyamus Niger, 1113

I
IAA. *Véase* Ácido indol-3-acético
IAA N-aspartato, 820
IAA-glicoproteínas, 820
IAA-glucano, 820
IAM hidrolasa, 816
Identidad de los órganos florales
  modelo ABC, 1078-1080, 1079f
Ilita, 140
Iluminación, fijación del nitrógeno, 486-489
Incorporación de auxinas, 824, 825-828
Indol, 559t, 817-818, 818f
Indol-3-acetamida (IAM), 816, 816f
Indol-3-acetonitrilo (IAN), 815-816, 818
Indol-3-glicerol fosfato, 817, 818f
Indolacetil-2-*O*-*mio*-inositol, *819f*
Indolacetilaspartato, 819f
Inducción de tumor, por *Agrobacterium*, 954-957, 954f
Inducción foliar, 1113-1114
Inducción fotoperiódica, 1102
Inducción indirecta, 1113-1114
Infecciones
  defensas de las plantas, 570-576
  etileno, 1011
Inflorescencia, del lirio vudú, 452
Información posicional
  destino celular, 677-679
  señalización inducida por ligando, 682-683
Ingeshousz, Jan, 213
Inhibidores
  de la α-amilasa, 566
  de la proteinasa, 566-567
  del etileno, 998-999
  del transporte de auxinas (ATIs), 829-830, 832-833
Iniciación floral, giberelinas, 887-888
Injerto, búsqueda del estímulo floral, 1112-1114
Inmovilización del nitrógeno, 487t
Inositol trifosfato (IP$_3$), 192-193, 473, 1055, 1061
  mio-Inositol 6-*O*-metiltransferasa, 1147
  mio-Inositol hexafosfato (IP$_6$), 1055
Insectos, secreción de citoquininas, 953
Integridad tensional, 850
Intercambio catiónico, 140-141
Interrupción nocturna, 1099-1100
Invertasas, 407, 425, 426f
Inyección de aire, 94
IPA. *Véase* Ácido indol-3-pirúvico
IP$_3$. *Véase* Inositol trifosfato
Ipomea acuminata, 697f
Iris pseudacorus, 1188
Irradiancia, 317, 725
Irradiancia fotónica, 317
Isocitrato, 474f, 476
Isocitrato liasa, 474f, 476
Isoflavonas. *Véase* Isoflavonoides
Isoflavonoides, 503, 545f, 554, 572, 573f
Isopentenil adenina (iP), 949
Isopentenil adenina ribótido, 957

Isopentenil adenosina-5'-monofosfato (iPMP), 957
Isopentenil difosfato (IPP), 537f, 538, 893t, 894, 1032f, 1033
Isopentenil transferasa (IPT), 955, 957-958
Isopreno, 337, 892, 953
Isoprenoides, 537
Isoquinolina, 559t
Isotiocianatos, 564
Isótopos, 350
Isozima desaturasa, 469

J
Jagendorf, André, 248
Jasmonato, 473
Jazmín, 1097
Judía
    crecimiento de plántulas etioladas, 710f
    nitrato y compuestos de nitrógeno en la savia del xilema, 494f
    rhizobia, 499t, 500t
    síntesis de etileno en las hojas, 994
    transporte por el floema, 384
    Véase también Haba; Alubia; *Vicia faba*
Juncos de fregar, 129
Juvenilidad
    cambio de fase, 1081, 1085-1086
    crecimiento del brote, 1082-1085
    giberelinas, 887, 890
    significado, 1086

K
Kalanchoe, 1097
Karpilov, Y., 291
ent-Kaureno, 882, 883f, 893t, 894
Kaureno oxidasa, 895
Klebsiella, 499t
Knop, Wilhem, 121, 123
Kok, Bessel, 236
Kortschack, H. P., 291
Krebs, Hans A., 434
Kudzú, 337

L
Lacasa, 612
Laticíferos, 362
Lamelas
    del estroma, 23f, 24, 223, 226
    de los grana, 223, 226
Lámina media, 6f, 591, 628
Láminas nucleares, 31, 36
Lanium, 531f
Lattuca, 712t
Lavatera, 324
LDPs. *Véase* Plantas de día largo
Leche de coco, 946-947
Lechuga, 712t
Lectina del floema, 368
Lectinas, 566, 505, 302
Leghemoglobina, 502-503
Legumbres
    fijación del nitrógeno, 499, 499t, 502
    formas de transporte de nitrógeno, 509-510
    inhibidores de la ?-amilasa, 564
    isoflavonoides, 554
    movimientos nictinásticos de las hojas, 734-736, 735f
    ruta IAN, 815-816 *Lemma*, 323f *Lens*, 510 Leucoplastos, 25 Levadura
    mutaciones en el transporte a través de membrana, 185
    producción de etileno, 994
    sensor histidina quinasa, 979
Ley de Fick, 60, 60f, 160
Ley de la reciprocidad, 726-727
LHCI 230, 230f
LHCII 230, 230f, 256
Ligandos de receptores, 682
Lignina, 2
    composición, 549
    paredes celulares, 549, 591, 610-612
Lima, 191t
Limbo de la hoja, 322f, 325-326
    ciclo de las xantofilas, 333-335
    punto de compensación de la luz, 328

Límite de exclusión por tamaño, 40
Límites de bajas de temperaturas, 1168
Limo, añadido al suelo, 137
Limoneno, 539, 541
Limones, 191
Limonoides, 541
Lipasa, 474f, 475
Lípidos
    conversión a carbohidratos, 473, 475
    energía almacenada, 464
    funciones, 465
Lípidos de membrana
    daño por congelación, 1163-165
    fosfolípidos, 8, 9f
    función en la membrana, 471-473
    glicerolípidos polares, 466, 467f
    síntesis de glicerolípidos, 468-470
Lípidos de reserva
    conversión a carbohidratos, 473, 475
    grasas y aceites, 463-465
    triacilgliceroles, 464-465
Lipoxigenasa, 519, 519f
Lirio de agua, 1185
Lirio vudú, 452
Lisosomas, 20
Lixiviado
    de fertilizantes, 135
    pérdida de nutrientes minerales, 135
    pH del suelo, 141-142
Lixiviado de nitrato, 487t
Llantén mayor, 391
Lloyd, F. E, 782
Lluvia ácida, 511
Lolium temulentum, 1088, 1105, 1118
Longitud de onda de la luz, 206
    espectro de acción, 214
Lorimer, George, 280
Lumen, de los tilacoides, 225, 238, 248
Lupinina, 559t
Lupinus
    alba, 494
    succulentus, 324f
Luz
    absorción por las hojas, 319-326
    absorción y emisión por moléculas, 209-213
    adaptaciones vegetales, 325-326
    cambio de fase, 1085
    características físicas, 206-209
    competición entre plantas, 709-711
    espectro de acción, 214-215
    germinación de la semilla, 732-734
    liberación de la dormición de semilla, 732-734
    medida, 317-319
    parámetros ecológicamente importantes, 732t
    regulación de la biosíntesis de giberelinas, 903-904
    proporción R/FR, 731-734
    ritmos circadianos, 734-737
Luz del azul
    fitocromo, 714
    fototropinas, 845
    inhibición de la elongación del hipocotilo, 728-729
    movimiento del cloroplasto, 323-324
    nictinastia, movimientos de la hoja, 734-738
    seguimiento solar, 324
    sincronización, 734
Luz del rojo
    control de la floración por el fitocromo, 1103-1104
    efectos morfogenéticos, 711
    movimientos nictinásticos de las hojas, 734-738
    sincronización, 734
    Véase también Fitocromo; Proporción R/FR
Luz del rojo lejano
    control de la floración por el fitocromo, 1103-1104, 1105-1106
    efectos morfogenéticos, 711
    fitocromo A, 739-740
    Véase también Fitocromo; Proporción R/FR

- Luz ultravioleta
  - flavonas y flavonoles, 553
  - fototoxicidad, 548
  - inhibición de la elongación del hipocotilo, 728-729
- *Lycopersicon*
- *hirsutum*, 1163f
- *esculentum*, 24f. *Véase también* Tomate

M

- Macronutrientes, 119
  - asimilación de cationes, 514-518
  - solución de Hoagland, 124t
- Madera, contenido en agua, 51-53
- MADS box, 1075
- Maduración del fruto
  - degradación de la pared celular, 628-629
  - etileno, 997, 1000-1002, 1015
  - tasas respiratorias, 458
- Maduración. *Véase* Maduración del fruto
- Magnesio
  - carencia, 130
  - complejos de coordinación, 515-516, 515f
  - funciones bioquímicas en las plantas, 120t, 130
  - niveles en los tejidos vegetales, 119t
  - regulación de la rubisco por la luz, 280-281
- Maíz
  - absorción de nutrientes por la raíz, 147-148
  - cierre estomático inducido por un déficit hídrico, 1138
  - crecimiento de la plántula etiolada, 710f
  - esterilidad citoplásmica masculina, 460
  - expresión génica de *KN1* en el meristemo, 688f, 689
  - factores de transcripción relacionados con ABA, 1058-1060
  - fotoinhibición, 339
  - granos de almidón, 301f
  - metabolismo fermentativo, 429
  - mutante *orange pericarp*, 817
  - mutantes de giberelinas, 885f, 887-888
  - mutantes del ácido abscísico, 1031, 1033, 1033f, 1042-1043
  - nitrato y compuestos nitrogenados en la savia del xilema, 494f
  - raíces en ambientes anóxicos, 1182-1184, 619
  - rendimiento del cultivo, 1132t
  - sección transversal de una hoja, 290f
  - transporte de fotoasimilados, 407
  - tasa de crecimiento de la raíz, 693-694
  - *Véase también Zea mays*
- Malato
  - ciclo del ácido cítrico, 438, 439
  - ciclo del carbono C_4, 291, 294f
  - despolarización de la membrana de las células guarda, 1053-1054
  - gluconeogénesis, 427
  - metabolismo ácido de las Crasuláceas, 297
  - metabolismo lipídico, 474f, 475-476
  - regulación de la PEP carboxilasa, 298
  - relaciones osmóticas de las células guarda, 782, 783f, 784
- Malato deshidrogenasa
  - ciclo del ácido cítrico, 438
  - ciclo del carbono C_4, 293t, 294f, 295
  - ciclo del glioxilato, 474f, 475-476
  - gluconeogénesis, 427
- Malato potásico, 516f
- Malato sintasa, 474f, 475-476
- *N*-Malonil ACC, 996
- Malonil-ACP, 468, 469f
- Malonil CoA, 466, 469f
- *Malus*, 1085t
- Mandioca, 564, 1137
- Manganeso
  - carencia, 131
  - estado S del ciclo de producción de oxógeno, 238-239
  - funciones bioquímicas en las plantas, 120t, 131
  - niveles en los tejidos vegetales, 119t
- *Mangifera indica*, 1085
- Mango, 1009, 1085

Manihot esculenta, 564, 1137
Manosa, 376f
  β-D-Manosa, 595f
Manzana, período juvenil, 1085t
MAP quinasa, 866, 1022
MAPKKK, serina/treonina proteína quinasa, 1022
Marcadores radiactivos, en la medida de la velocidad del floema, 378-379
Marchitamiento,
  punto de marchitez permanente, 84
Mas7, 932
Material polimérico complejo, 614-615
Matriz mitocondrial, 22, 435f, 436
MCP. Véase 1-metilciclopropeno
Mecanismos de concentración del dióxido de carbono
  bombas de dióxido de carbono, 288-289
  ciclo del carbono C_4, 289-296
  efectos sobre las respuestas fotosintéticas de las hojas, 349-350
  metabolismo ácido de las Crasuláceas, 296-300
«Media membrana», 93-94
Medicago sativa
  fototropismo estimulado por la luz del azul, 769
  rhizobia, 499t, 500t
  tolerancia a la congelación, 1169
Medicarpina, 573f
Megapascales (MPa), 57
Melón, 393
Membrana mitocondrial
  externa, 435f, 436
  interna, 435f, 436, 440-457
Membrana peribacteroidal, 507
Membrana plasmática
  estructura, 9f
  funciones, 159
  permeabilidad al agua, 620-623
  procesos de transporte, 181f
  síntesis de microfibrillas de celulosa, 594, 598f
  transporte de sodio, 1179-1180
  transporte de soluto, 159
Membrana vacuolar, 20
Membranas
  composición lipídica, 471-472
  daño por congelación, 1163-1165
  de cloroplastos, 22, 24, 23f, 466, 468
  de la mitocondria, 21, 22f
  estrés por calor, 1155-1156
  estructura, 8, 9f
  «media membrana», 29
  movimiento del agua, 58-59
  ósmosis, 63
  Véase también Membrana plasmática
Membranas selectivamente permeables, 63
Mendel, Gregor, 897
Mentol, 539
Meristemo apical, 5
  α-D-Apiosa, 595f
  crecimiento vegetal, 692-693
  síntesis de auxinas, 820
  Véase también Meristemo apical de la raíz; Meristemo apical caulinar
Meristemo apical caulinar, 657
  cambio de fase, 1081-1089
  competencia y vernalización, 1109-1110
  estructura dinámica, 657
  fases del desarrollo, 1081-1082
  gen *SHOOTMERISTEMLESS*, 651
  origen de las hojas, 662
  proteína KN1 y señalización célula a célula, 674-675, 688f, 689
  regulación de la división celular por citoquininas, 962-964, 963f
  rutas de expresión génica, 679-681
  señalización hormonal, 683
  señalización inducida por ligando, 682-683
  síntesis de auxinas, 813
  zonas funcionales y capas, 657-659
Meristemo apical de la raíz
  centro quiescente, 644, 668
  desarrollo, 643-645

  - divisiones celulares periclinales, 667
  - gen *HOBBIT*, 649, 651
  - tipos de células madre, 667-669
- Meristemo fundamental, 642, 649
- Meristemo intercalares, 659, 886, 915-916
- Meristemos
  - carácter embrionario en, 656
  - en el crecimiento y el desarrollo, 656-661, 691-693
  - plantas determinadas, 660, 1132
  - plantas indeterminadas, 660, 1132
  - secundario, 659-660
  - transición del estado vegetativo al reproductivo, 1070-1073
  - *Véase también Tipos específicos de meristemos*
- Meristemos axilares, 659
- Meristemos de inflorescencia, 661
  - auxinas, 831
  - primarios y secundarios, 1072
- Meristemos de las raíces laterales, 659
- Meristemos del brote, tipos, 659
- Meristemos ectópicos, 962
- Meristemos florales
  - auxinas, 861-862
  - desarrollo de los órganos florales, 1070-1078
  - transición a, 1070-1073
  - visión general, 660
- Meristemos *pin*, 684-686
- Meristemos primarios, 641, 659
- Meristemos primarios de inflorescencia, 1072
- Meristemos secundarios
  - raíces, 659
  - tipos, 659-660
- Meristemos secundarios de inflorescencia, 1072
- Meristemos vegetativos
  - características embrionarias, 656
  - crecimiento vegetal, 637-638
  - tipos, 659
  - transición al meristemo floral, 1071-1072
- *Mesembryanthemum crystallinum*, 298, 792, 1147f
- Mesofilo
  - absorción de la luz, 321-323
  - en plantas C_3 y C_4, 289, 290f, 291
- Mesofilo esponjoso, 322
- Metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM), 296-300
  - inducido por estrés osmótico, 1146-1147
- Metabolismo de lípidos, 463-476
- Metabolismo fermentativo, 429
- Metabolitos secundarios
  - compuestos fenólicos, 542-557
  - compuestos nitrogenados, 558-569
  - función, 533-534
  - principales grupos, 536-537
  - producción, 534-535
  - rutas biosintéticas, 535f
  - terpenos, 536-542
  - visión general, 533-534
- Metabolitos secundarios nitrogenados
  - ácido jasmónico, 567, 568
  - alcaloides, 558-569
  - aminoácidos no proteicos, 565
  - glucósidos cianogénicos, 562-564
  - glucosinolatos, 564-565
  - proteínas que impiden la digestión e inhibidores de la proteinasa, 566
- Metafase, mitosis, 32, 33f
- Metales pesados, en suelos, 142
- *Methanococcus*, 499t
- Methemoglobinemia, 489
- 1-Metilciclopropeno (MCP), 999, 1015
- 3-Metilenoxindol, 821f
- Metil salicilato, 576
- Metionina, 510, 992, 994
- Método del bloque de gelatina dador-aceptor, 823-824
- Micelio, 150
- Michel, Hartmut, 227
- Micorrizas
  - ectotróficos fúngicos, 150, 84
  - ericaceous, 150
  - movimiento de nutrientes en la planta, 152
  - orquideáceos, 150
  - tipos, 150-152

  - vesículo-arbuscular de hongos, 151-152
- Microcuerpos, 27-28
- Microfibrillas de celulosa
  - crecimiento difuso de la célula, 613-615
  - estructura, 593-599, 596f
  - expansión celular lateral inducida por etileno, 1005-1006
  - formación de la pared secundaria, 669-672, 671f
  - microtúbulos corticales, 615-617
  - síntesis, 594-599, 598f, 599f
- Microfilamentos
  - corriente citoplásmica y crecimiento según el eje de elongación, 34–35
  - ensamblaje y despolimerización, 31-32
  - estructura, 30
  - modelo de tensegridad del gravitropismo, 850
- Micronutrientes, 118
  - adición al suelo, 136-137
  - asimilación de cationes, 514-518
  - solución de Hoagland, 124t
- Microtúbulos
  - ensamblaje y despolimerización, 31-32
  - estructura, 30-31
  - expansión lateral celular inducida por etileno, 1005-1006
  - formación de la pared celular secundaria, 669-672, 672f
  - inestabilidad dinámica, 32
  - mitosis y citocinesis, 32-34
  - orientación de las microfibrillas de celulosa, 615-617
- *Mimosa*, 735f, 736
- *Mimulus cardinales*, 370f
- Mineralización, 137, 487t
- Miosinas, 35
- Mirosinasa, 564
- Mitchell, Peter, 247
- Mitocondrias
  - calcio, 192
  - características de su estructura interna, 435f, 436
  - características semiautónomas, 25, 435-436
  - ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono, 238, 284f, 285-286
  - composición de ácidos grasos relacionado con la tolerancia o la resistencia de las plantas a la congelación, 1164t
  - endosimbiosis, 260
  - estructura y función, 21, 22f
  - genoma, 25, 450-451
  - metabolismo lipídico, 474f, 475-476
  - respiración, 457
  - semejanzas con el flujo de electrones de cloroplastos y bacterias purpúreas, 250f, 251
  - transporte transmembrana, 447, 448f, 449
- Mitosis
  - microtúbulos, 32, 33f
  - visión general de las etapas, 33f
- Modelo ABC, de identidad de los órganos florales, 1078-1080, 1079f
- Modelo combinatorio, de cambio de fase, 1082
- Modelo de «trampa de polímeros», de la carga del floema, 393-395
- Modelo de fototropismo de Cholodny-Went, 844-846
- Modelo de la coincidencia, 1101
- Modelo de la difusión pasiva de la carga del floema, 196
- Modelo de inhibición directa de la dominancia apical, 858
- Modelo de la tensegridad del gravitropismo, 850
- Modelo de flujo de presión, 379-386
  - flujo bidireccioneal, 382, 384
  - gradiente de presión, 380
  - insensibilidad al aporte de energía, 380, 382
  - poros de la placa porosa no obstruidos, 381-384
  - predicciones del modelo, 381-382
- Modelo del mosaico fluido, 8

Modelo quimiosmótico
  fosforilación oxidativa, 444-447
  fotofosforilación, 247-251
  principios básicos, 248
  transporte polar, 825-829
  universalidad, 247
Mohl, Hugo von, 782
Moléculas anfipáticas, 10, 468
Moléculas polares, como el agua, 54-55
Molibdeno
  biosíntesis del ácido abscísico, 1033
  carencia, 133, 490-491
  funciones bioquímicas en las plantas, 120t, 133
  nitrato reductasa, 490
  niveles en los tejidos vegetales, 119t
Monocapa fosfolipídica, 29
Monocotiledóneas
  degradación del fitocromo tipo I, 720
  sistema radical, 143-144
Monogalactosildiacilglicerol, 466, 467f
Monooxigenasas, 519, 520
Monoterpenos, 536-542
Monovinil protoclorofilida *a*, 259f
Montmorilonita, 140
Morfina, 559t, 560
Morfogénesis
  de la raíz, 664-666
  relación auxinas/citoquininas, 967
Mostaza blanca, 728, 729
Motores moleculares, 251
Mougeotia, 712t, 745
Movilización de nutrientes inducida por citoquininas, 972-973
Mucigel, 144
Mucílago, 368. *Véase también* Proteínas P
Muerte celular programada (PCD), 461
  diferenciación de los elementos traqueales, 669-672, 671f, 672f
  relacionada con la hipoxia, 1187
  senescencia, 698-699
Munch, Ernest, 380
Musáceas, 815
Musgos
  citoquininas y formación de la yema, 968
  respuestas del fitocromo, 712t
Mutación *wus*, 681
Mutaciones
  de ganancia de función, 674
  de pérdida de función, 674
  homeóticas, genes de identidad floral, 1075-1076
  recesivas, 674
Mutante
  abh, 1060
  agr, 852
  cre1, 964, 979
  ctr1, 1021, 1024
  dwarf1, 932, 936
  ein2, 1022
  elf3, 1107
  era, 1060
  etr1, 1016-1018, 1021
  fab1, 1165
  fiery (*fry*), 1061
  flacca, 1033
  floricaula, 1074
  fusca3, 1043
  ga1-3, 919
  gai-1, 918, 919, 920, 921, 922
  knolle, 654-656
  la cry^{s}, 923
  nana, 899
  never-ripe, 1002
  nph1, 788
  npq1, 792-794
  orange pericarp (orp), 817
  phot1, 789, 782-794, 795
  phot2, 789, 792-794
  phyA, 739, 795
  phyB, 738
  procera, 923
  ran1, 1019
  rga, 920
  rht, 922
  rms4, 959
  scarecrow (scr), 848
  «slender», 916, 922, 923

  sitiens, 1033
  spindly, 923
  tms, 967
  wilty, 1045
  yellow-green, 718
Mutantes
  aba, 1033, 1041-1042
  abi, 1041-1042, 1056, 1057, 1059-1060, 1170
  alf, 860
  ap, 1076
  aux1, 827-828
  clv, 681
  cry, 756-757, 788, 795
  de la triple respuesta, 1016
  de respuesta constitutiva, 923
  deficientes en giberelinas, 916
  del etileno, 1010, 1015
  fass, 653-654
  gnom, 647
  hbt, 651
  homeóticos florales, 1075-1076
  hy, 716, 728-729, 739, 786, 787, 788, 1107
  insensibles a ABA, 1056, 1057, 1059-1060
  lec1, 652
  mp, 647-649, 685
  que revierten el fenotipo, 459
  shr, 649
  toc, 737
  ton, 653-654
  vp, 1033, 1033f, 1043, 1059
Mutantes de respuesta a giberelinas
  clases, 916
  defectos en la transducción de señal, 916-917
  mutantes «*slender*», 922, 923
  represores DELLA, 921, 922, 923
  represores GAI y RGA, 918-920

N

NADH. *Véase* Nicotinamida adenina dinucleótido (NADH)
NADH deshidrogenasa, 441, 443, 453
NADH deshidrogenasa resistente a la rotenona, 441f, 443, 453
NADH-GOGAT, 495f, 496
NADP. *Véase* Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NADP:gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, 275, 279, 1155
NADPH deshidrogenasa, 432, 441, 443
NADP:malato deshidrogenasa, 279, 293t, 295NCED, 1032f, 1033
ND_{ex}(NADH), 443, 453
NDPK2. *Véase* Nucleósido difosfato quinasa 2
Necrosis / Lesiones nectróticas, 695, 699
  de nutrientes minerales, 127-133
  negra, 130
Neljubov, Dimitry, 991
Nemátodos de la raíz, 953
  secreción de citoquininas, 953
9'-*cis*-Neoxantina, 1032f, 1033
Nerium oleander, 1155
Nervios, 95, 97
Neurospora, 765
Nicotiana
  estudios del estímulo floral mediante injertos, 1112
  rejuvenecimiento, 1083
  transición de fuente a sumidero en hojas, 400-401
  tumores genéticos, 969-970
Nicotiana attenuata, 562
Nicotiana sylvestris
  antiflorígeno, 1115
  estudios del estímulo floral mediante injertos, 1112
Nicotiana tabacum
  aparato de Golgi, 17f
  células guarda, 107f
Nicotina, 558, 561f
Nicotinamida adenina dinucleótido (NADH)
  asimilación del nitrato, 490
  asimilación del sulfato, 513
  cadena de transporte electrónico, 440-442, 441f

ciclo del ácido cítrico, 436, 437, 438
ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono, 284f, 285-286
estructura, 421f
fermentación, 429
glicólisis, 424, 426f
reacciones redox, 421, 423
Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP)
asimilación del nitrato, 490
asimilación del sulfato, 513
ciclo de Calvin, 270, 271, 274, 275, 275f, 276-278
estructura, 421f
reacciones redox, 421, 423
reducción de NADP en la fotosíntesis, 219, 231, 245
ruta oxidativa de las pentosas fosfato, 431-432, 433f, 434
Nictinastia, 734-738, 744
Niel, C. B. van, 213
Níquel
carencia, 133
funciones biológicas en las plantas, 120t, 133
niveles en tejidos vegetales, 119t
Nitella, 34, 169
Nitrato
asimilación en raíces y tallos, 493
ciclo del nitrógeno, 486-489
efectos tóxicos, 489-490
intercambio aniónico, 140
solución de Hoagland, 124t
transporte por el xilema, 377
Nitrato de plata, 999
Nitrato reductasa,
conversión del nitrito en amonio, 492-493
molibdeno, 133
regulación, 491-492
estructura y funciones, 490-491
Nitrificación, 487t
Nitrilasa, 815, 818f
Nitrilos, 564
Nitrito, conversión en amonio, 492-493
Nitrito reductasa, 492
Nitrogenasa, 133, 499
complejo enzimático, 507-509
Nitrógeno
funciones bioquímicas en las plantas, 120t
niveles atmosféricos, 486
niveles en tejidos vegetales, 119t
solución de Hoagland, 123
Nitrosaminas, 489
Noche subjetiva, 1092
Nódulos
fijación de nitrógeno, 502-507
meristemático, 505
Nonasacáridos, 629
Nopalina, 955f
Nostoc, 499, 499t
NPA, 685, 829, 832, 833, 861, 1007
NPPB, 1053
Nucleación del hielo, 1166, 1168
bacterias, 1169
Núcleo
criptocromos, 794
estructura y función, 10–14
filamentos intermedios, 30, 36
movimiento del fitocromo, 750-752
Nucleoides, 25
Nucléolo, 13
Nucleosomas, 12, 14f
Nucleósido difosfato quinasa 2 (NDPK2), 756
Nudos, 4
Número celular, 690, 691
Nutrición mineral
absorción de iones por la raíz, 147-148
carencias, 125-133
elementos esenciales, 118-121
micorrizas, 149-152
soluciones nutritivas, 121-125
suelos, 138-142
técnicas especiales, 121-123
visión general, 117
Véase también Asimilación de nutrientes
Nutrientes minerales, 117
cambio de fase, 1085

elementos esenciales, 118-121
lixiviado, 135
Nymphoides peltata, 1008, 1185

O
OAA. *Véase* Oxalacetato
OAS. Véase *O*-acetilserina
OAS-tiol liasa, 513
Octopina, 955f
Olefinas, 992, 1019
Oleosinas, 29, 465
Oleosomas, 29, 465-466, 471
Oligogalacturonanos, 630
Oligosacáridos con enlace *O*, 18
Oligosacarinas,629
Onoclea, 712t
Opinas, 955
Opuntia, 1153
Opuntia phaeacantha, 191t
Organizador nucleolar, 13
Organismos fijadores del nitrógeno, 498-499, 499t, 500t
Organogénesis, en el desarrollo de la hoja, 661-663
Órganos florales
formación, 1069-1070
meristemos florales, 1070-1080
Orgánulos productores de energía, 21-27. *Véase también* Cloroplastos; Mitocondria
Orgánulos semiautónomos, 25, 26
mitocondrias, 435-436
Orizalina, 617, 617f
Ornitina, 559t
Ortofosfato, 281, 305, 306, 307
Ortóstico, 373
Osbourn, Anne, 570
Oscilador circadiano, 734
bucle transcripcional de retroalimentación negativa, 748-749
cambio de fase, 1092
características, 1089-1092
fotoperiodismo, 1093, 1099-1100
modelo de coincidencia, 1101-1102
mutantes *toc*, 737
sincronización, 1090
Oscilador. *Véase* Oscilador circadiano
Oscilador endógeno. *Véase* Oscilador circadiano
Osmolalidad, 64
Osmolitos, 1172
Osmorregulación, de las células guarda, 782-786
Oxalacetato (OAA), 294f
ciclo del ácido cítrico, 437, 437f
ciclo del glioxilato, 474f, 475-476
gluconeogénesis, 427
metabolismo ácido de las Crasuláceas, 297
Oxalis, en roseta, 191t
OxIAA. *Véase* Ácido oxindol-3-acético
β-Oxidación, 474f, 475
Oxidasa, en el ensamblaje de la pared celular, 610
Oxidasa alternativa, 443, 451-453, 460
Óxido de etileno, 992
Óxido nítrico, (NO), 1050
Oxigenación, fotorrespiración. *Véase* Fotorrespiración
Oxigenasas, 519
Oxígeno
singlete, 253
efectos sobre la respiración, 461
2-Oxoglutarato, 437f, 438, 459, 495f, 496
2-Oxoglutarato deshidrogenasa, 454

P
Paál, A., 809f
Paclobutrazol, 891, 895, 921
Par de punteadura, 89, 90f
Paraheliótropos, 325
Paraquat, 246
Parasponia, 500t
Paredes celulares primarias, 4, 4f
composición, 592-594
diversidad morfológica, 590-591
ensamblaje durante la citocinesis, 610
hemicelulosas, 592f, 593, 601-602
patrones de expansión, 612-617

  pectinas, 602-606
  síntesis de microfibrillas de celulosa, 593-599, 598f, 599f
  síntesis de polímeros de la matriz, 600
Paredes celulares secundarias, 4, 4f
  descripción general, 591
  estructura y composición, 609-611
  formación durante la diferenciación de los elementos traqueales, 669-672, 671f, 672f
Parénquima
  carga del floema, 195-198
  del floema, 362
  pared primaria, 590f
  recuperación de la división celular en zonas de abscisión, 944-945
  transporte polar de auxinas, 822-829, 837
Parénquima del xilema, 195-198
Parénquima vascular, transporte polar de las auxinas, 825, 837
Partenocarpia, 864
Partícula de reconocimiento de la señal (SRP), 15f, 17
Partículas del suelo
  clasificación por tamaños, 139-140
  intercambio catiónico, 140-141
  orgánicas, 139
Partículas en roseta, 597, 598f
Pascales (Pa), 57
Pasiflora
  maliformis, 1163
  vaerulea, 1163
Patata
  formación de tubérculos, 906
  tolerancia a la congelación, 1171
Patógenos, defensas de las plantas, 570-576
Patrón axial
  divisiones celulares estereotípicas, 653
  durante la embriogénesis, 641, 643-645, 645f
  gen *GNOM*, 647
Patrón de formación
  citocinesis, 652-656
  Véase también Patrón axial; Patrón radial
Patrón radial
  señalización célula a célula, 686-689
  citocinesis, 654-656
  durante la embriogénesis, 642, 645-646
  genes *SCARECROW* y *SHORT ROOT*, 649
  división celular esterotípica, 653
Patrones de nerviación, 96-97
PC:DAG aciltransferasa, 471
PCMBS, 398
Pectato cálcico, 516f
Pectina esterasas, 604
Pectina metil esterasas, 610, 629
Pectinas
  cambios posteriores a la expansión de la pared, 628-629
  degradación, 628
  matriz de polisacáridos, 602-606
  paredes celulares primarias, 592f, 593-594
Pelargonidina, 552t
Pelos glandulares, 539
Pelos radicales
  absorción de agua, 85
  absorción iónica, 193
  absorción radicular, 147-148
  desarrollo, 147
  etileno, 1003f, 1008-1009
Penicillium, 991
Pentosas, en las paredes celulares, 595f
Peonidina, 552t
PEP carboxilasa
  ciclo del ácido cítrico, 439
  ciclo del carbono C_4, 292-294, 294f, 295
  con isótopos del carbono, 350-351
  estrés inducido, 1147, 1147f
  estrés por calor, 1155
  fosforilación, 298-299
  gluconeogénesis, 427
  metabolismo lipídico, 474f, 476
  regulación de la glicólisis, 430
PEP. *Véase* Fosfoenolpiruvato

PEP carboxilasa quinasa, 298
Pepino
  movimiento de proteínas por el floema, 410
  tejido vascular primario, 670f
Péptido
  señal, 17
  tránsito, 258
Pérdida de calor
  de las hojas, 335, 1144-1146
  por evaporación, 335
Pérdida de la diferenciación, 672
Perfil metabólico, 431
Periciclo, 5
  procambium, 646
  raíces laterales, 666
Peridermis, 533, 660
Perilla crispa
  estudios del estímulo floral mediante injertos, 1112, 1114
  inducción fotoperiódica, 1101
  inducción indirecta, 1114
Perilla fruticosa, 494f
Período de latencia
  del fitocromo, 724
  para el crecimiento inducido por auxinas, 837-838
  para el crecimiento inducido por giberelinas, 914
  respuestas a la luz del azul, 782
Período, de un ritmo circadiano, 734, 1090, 1091f
Período de oscuridad, respuesta fotoperiódica, 1099-1100
Permanganato potásico, 993
Permeabilidad de la membrana, 164
  estudios con membranas artificiales, 173
  valores típicos de permeabilidad, 173f
Permeasas AUX1, 833f, 834, 853
Peroxidasa
  degradación del IAA, 820-822, 821f
  ensamblaje de la pared celular, 610
  lignificación de las paredes celulares, 612
  maduración de la pared, 629
Peróxido de hidrógeno,
  ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono, 283, 285
  estallido oxidativo, 629
  respuesta hipersensible, 571
Peroxisomas, 27, 28f, 283, 284f, 285-286
Peso fresco, 690
Petunia, 864, 1113
Petunia hybrida, 1113
Petunidina, 552t
Pfr, 1103
  estructura, 717f
  forma del fitocromo fisiológicamente activa, 715-716
  interconversión a Pr, 713-715
  movimiento hacia el núcleo, 751
pH citoplásmico
  distribución de IAA, 822
  respuesta de la raíz a la gravedad, 855-856
  ruta de transducción de señal inducida por auxinas, 866
  Véase también pH citosólico
pH citosólico
  canales de la membrana plasmática de las células guarda, 1054
  deficiencia en oxígeno, 1183-1184
  transducción de señal inducida por ácido abscísico, 1058
  Véase también pH citoplásmico
pH de la savia, y ácido abscísico, 1035
Phalaris canariensis, 808
Pharbitis, 1100, 1104
Phaseolus coccineus, 883
Phaseolus vulgaris
  crecimiento de plántulas etioladas, 710f
  dominancia apical, 857, 858
  duración del día, 1097
  formas de transporte de nitrógeno, 509-510
  rhizobia, 499t, 500t
  síntesis del etileno en hojas, 994
  transporte por el floema, 385
Phleum pratense, 23f

Photorhizobium, 499, 499t, 500t
PHYA, 1105
PHYB, 1105, 1107
Phycomyces, 769, 770
Phytophthora, 629-630
Picea
  engelmannii, 1168
  sitchensis, 332f
PIF3, 751-752
Pigmento azul, 552
Pigmentos accesorios, 211-212
  membranas de los tilacoides, 224
  terpenos, 536
Pigmentos bilina, 211f
Pigmentos fotosintéticos
  complejo antena, 216-218
  estructura y características, 211f, 212
  Véase también Clorofila(s)
Pino, 1169
Pinos
  células cribosas, 367f
  resistencia a la congelación, 1168
  respuestas del fitocromo, 712t
Pinus
  contorta, 1169
  resinosa, 367f
PIP$_2$, 473
Piper auritum, 733
Piperidina, 559t
Piretroides, 539
Piridoxal fosfato, 497
Pirofosfatasa, 293t, 293, 300f, 301, 302t, 304t
Pirrolidina, 559t
Pirrolidina-5-carboxilato sintasa, 1147
Pirrolizidina, 559t
  alcaloides, 559
Piruvato
  biosíntesis de terpenos, 537f, 538
  ciclo del ácido cítrico, 436, 438
  ciclo del carbono C$_4$, 293
  estructura, 427f
  fermentación, 429, 1183-1184
  glicólisis, 425, 426f
  transporte mitocondrial transmembrana, 447, 448, 449f
Piruvato descarboxilasa, 429
Piruvato deshidrogenasa
  ciclo del ácido cítrico, 437, 437f
  regulación, 454
Piruvato ortofosfato diquinasa, 291, 293, 295
Piruvato quinasa
  glicólisis, 426f, 428, 430
  regulación, 456
Pistilos, 1073f
Pisum sativum
  células de compañía, 370f
  deficiencia de oxígeno, 1181
  formas de transporte de nitrógeno, 509-510
  respuestas del fitocromo, 712t
  rhizobia, 499t, 500t
  transporte y acumulación de citoquininas, 959-960
  Véase también Guisante
PKS1. *Véase* Sustrato 1 de la fitocromo quinasa
Placa celular, 32-33, 25f, 608
Placas cribosas, 366
Placas de perforación, 89, 90f
Plaga del sur de la hoja de maíz, 460
Plantago major, 391
Plantas
  acuáticas, y etileno, 1008
  anuales de invierno, y vernalización, 1108
  de sol, proporción R/FR y percepción de la sombra, 731-732
  de sombra, proporción R/FR y percepción de la sombra, 731-732
  en roseta, 883, 886
  enanas insensibles a las giberelinas, 917
  leñosas y aclimatación al frío, 1167
  sensibles a la inundación, 1181
  tolerantes a la sal, 142
  tolerantes a la inundación, 1181
Plantas C$_3$, 291
  con isótopos del carbono, 350-351
  efectos de la temperatura en la fotosíntesis, 352

  - efectos del dióxido de carbono en la fotosíntesis, 346-348
  - estrés por calor, 1153-1154
  - patrones de incorporación de carbono, 299
  - rendimiento cuántico, 329
- Plantas C_4, 289
  - con isótopos del carbono, 350-351
  - efectos de la temperatura en la fotosíntesis, 352
  - efectos del dióxido de carbono en la fotosíntesis, 349-350
  - estrés por calor, 1153
  - mecanismos de concentración del dióxido de carbono, 349-350
  - patrones de incorporación de carbono, 299
  - regulación de la PEP carboxilasa, 298-299
  - tasa de transpiración, 109
- Plantas CAM
  - con isótopos del carbono, 350-351
  - mecanismos de concentración de CO_2, 349-350
  - patrones de incorporación del carbono, 299
  - tasa de transpiración, 109
- Plantas con flores, 2. *Véase también* Angiospermas
- Plántas con semillas, 2. *Véase también* Angios-permas; Gimnospermas
- Plantas cualitativas
  - de día corto, 1096
  - de día largo, 1096
- Plantas cuantitativas
  - de día corto, 1096
  - de día largo, 1096
- Plantas de día corto (SDPs)
  - características, 1096, 1097, 1098f
  - estudios del estímulo floral mediante injertos, 1112-1114
  - fotorreceptores, 1103-1104
  - hipótesis del reloj, 1100
  - inducción indirecta, 1113-1114
  - interrupción nocturna, 1099
  - modelo de la coincidencia, 1101-1102
  - percepción del estímulo fotoperiódico en la hoja, 1102
  - período oscuro, 1097-1099
  - respuesta a la luz del rojo lejano, 1105
  - transporte del estímulo floral, 1102-1103
- Plantas de día corto-largo (SLDPs), 1097, 1113-1114
- Plantas de día largo (LDPs)
  - antiflorígeno, 1115
  - características, 1096, 1097, 1098f
  - control de la floración por la luz del azul, 1106-1107
  - estudios del estímulo floral mediante injertos, 1112-1114
  - floración inducida por giberelinas, 1117-1118
  - fotorreceptores, 1104, 1105-1106
  - inducción indirecta, 1113-1114
  - interrupción nocturna, 1099-1100
  - modificación de la floración por la luz del rojo, 1106
  - percepción del estímulo fotoperiódico en la hoja, 1102
  - regulación epigenética, 1110
  - ritmos circadianos, 1105-1106
  - transporte del estímulo floral, 1102-1103
- Plantas de día largo-corto (LSDPs), 1097
- Plantas de día neutro
  - características, 1097
  - estudios del estímulo floral mediante injertos, 1112-1114
- Plántulas
  - análisis cinético del crecimiento, 691-693
  - de crecimiento etiolado, 709, 710f
  - estrés por calor, 1152-1153
  - fitocromos, 722, 739, 741-742
  - fotomorfogénesis, 709-711
  - triple respuesta, 991, 998, 1005-1006
- Plántulas etioladas
- desarrollo de cloroplastos y citoquininas, 973-974, 973f
  - gancho apical inducido por etileno, 1007
  - niveles y localización del fitocromo, 721-723
- respuesta del fitocromo a una alta irradiancia, 727-728

Plasmalema, 8. *Véase también* Membrana plasmática
Plásmido Ti, 954-957, 954f, 967, 976
Plásmidos, 954
Plasmodesmos, 194
  conexión entre los elementos del tubo criboso y las células de compañía, 369-371
  estructura y función, 39-41
  mesofilo de plantas C_4, 289, 290f, 291
  penetración en las paredes celulares, 591
  primarios, 39
  secundarios, 40
  señales transportadas a larga distancia por el floema, 410-411
  señalización célula a célula, 688
  tipos, 39
Plastos
  biosíntesis de ácido abscísico, 1031-1035
  biosíntesis de giberelinas, 893t, 894-896
  carbohidratos como sustratos de la glicólisis, 424, 425
  interconversión, 26
  membranas, 8
  síntesis de fitocromobilina, 717-718
  síntesis de glicerolípidos, 468-470
  tipos, 22, 24-25
  Véase también Cloroplastos
Plastocianina, 239, 243
Plastohidroquinonas, 240, 243
Plastoquinonas, 227, 240, 243, 247, 255
Plastosemiquinona, 240
Plata
  etileno, 999
  receptores de etileno, 1019
Pneumatóforos, 462
Poáceas, 815
Podocarpus, 611f
Poiseuille, Jean-Léonard Marie, 62
Polaridad axial, 641
Polifenoles, 556
Poligalacturonasas, 1012
Polirribosomas, 16f
Polisacáridos, 18
Polisacáridos de la matriz
  cambios posteriores a la expansión de la pared, 628-629
  hemicelulosas, 601-602
  paredes celulares primarias, 590, 592-594, 592f
  pectinas, 602-606
  síntesis, 600
Politerpenos, 537f, 538
Polypodium vulgare, 541
Polytrichum, 712t
Populus, 337
Populus tremuloides, 1169
Porfirina, 518
Porfobilinógeno, 259f
Poro estomático
  apertura, 107-108
  células guarda, 103-104, 106
  resistencia a la difusión, 102, 103-109
Poro nuclear, 11, 13f
Poros de la placa cribosa, 382-384
Potamogeton pectinatus, 1185
Potasio
  carencia, 129
  flujos regulados por el fitocromo, 736, 744-745
  funciones bioquímicas en las plantas, 120t, 129
  gradiente electroquímico a través de las raíces, 196f
  intercambio catiónico, 140
  niveles en tejidos vegetales, 119t
  osmorregulación de las células guarda, 782, 783f, 784
  procesos de transporte hacia el interior y el exterior de las células, 180
Potencial de difusión, 164
Potencial de difusión de Goldman, 170
Potencial de membrana
  componentes, 93
  en el equilibrio iónico, 165, 167
  formación, 164

  - fosforilación oxidativa, 444-445
  - recuperación, 171-173
  - transporte de protones, 171-173
- Potencial de Nernst, 167
- Potencial de presión, 65
  - del agua del suelo, 81
  - presión de turgencia, 70
  - ruta de transporte del agua, 63
  - xilema, 74-75
- Potencial de soluto, 64-65
  - modelo de flujo de presión de transporte por el floema, 379-386
  - variabilidad en las plantas, 74-75
- Potencial electroquímico
  - definición, 163
  - formación en los tilacoides durante la fotosíntesis, 243
- Potencial en reposo, 169-170
- Potencial gravitrópico, 110f
- Potencial hídrico
  - definición, 64
  - del suelo, 81
  - estado hídrico de la planta, 73-74
  - estrés por salinidad, 1177
  - expansión de la pared celular, 621-622, 622f
  - modelo de flujo de presión para el transporte por el floema, 379-386
  - osmosis, 63, 64-70
  - presión de turgencia, 70
  - principales factores que le afectan, 64-66
  - punto de marchitez permanente, 84
  - rutas de transporte de agua, 85-86
  - variabilidad de los componentes en las plantas, 74-75
- Potencial mátrico, 65, 81
- Potencial osmótico, 64-65
  - carga del floema, 389-390
  - células guarda, 107
  - ruta de transporte de agua, 106f
- Potencial químico, 63, 160-163
  - fosforilación oxidativa, 444-445
  - mecanismo quimiosmótico, 247
- *Power of moviment in plants, The* (Darwin), 809
- Pr, 1104
  - cambios conformacionales inducidos por la luz, 718
  - estructura, 716
  - interconversión a Pfr, 713-715
- Precursor hipofisario, 651
- Presión
  - medida, 57
  - potencial hídrico, 64
- Presión crítica de oxígeno (COP), 1182-1184
- Presión de turgencia
  - como presión hidrostática positiva, 65–66
  - factores que le afectan, 70–72
  - modelo de flujo de presión, 379-386
  - movimiento del agua, 69
  - movimientos de las células guarda, 107-108
  - movimientos nictinásticos de las hojas, 734-738
  - paredes celulares, 51, 70, 621-622, 623f
  - potencial hídrico, 66, 68
  - reparto de los fotoasimilados, 403
  - significado de valores positivos, 74
  - vacuolas, 19-20
- Presión hidrostática, 57, 65
  - movimiento del agua, 66, 68
  - presión positiva del xilema, 87
- Presión hidrostática negativa, 95, 100
- evaporación de agua de las hojas, 95, 97
- teoría de la cohesión-tensión de la savia ascendente, 93
- Presión radical, 87-88, 95
- Priestly, Joseph, 213
- Primordio foliar, 662
  - síntesis de auxinas, 813, 820
- Primordio nodular, 505, 506f
- *Primula kewensis*, 16f
- Proantocianidinas, 555
- Procambium, 642, 646
- Proceso de Haber-Bosch, 487
- Proceso de elaboración de la malta, 890
- Producción de calor
  - proteína desacopladora, 453
  - ruta de la oxidasa alternativa, 451-453

Producción de etileno inducida por estrés, 997-998
Producción de manzana, 890
Producción del fruto
  etileno, 1015
  giberelinas, 889
Productividad del cultivo, curvas de respuesta a la luz, 329
Productividad vegetal, ajuste osmótico, 1141
Productos naturales. *Véase* Metabolitos secundarios
Productos secundarios. *Véase* Metabolitos secundarios
Profase, mitosis, 32, 33f
Prohexadiona, 896
Prolina hidroxilasa, 519, 519f
Prolina, 556, 1141
Promeristemos, 649, 651, 669
Promeristemos del brote, 651
Prometafase, mitosis, 33f
Promotores, regulados por la luz, 749
Propiedades
  reológicas, 619
  viscoelásticas, 629
Proporción R/FR
  definición, 731
  germinación de la semilla, 732-733
  y la sombra, 731-732
  variabilidad ambiental, 731
Protoplastos, 26, 26f
Prosistemina, 567
Prosopis, 143, 1131
Proteaceae, 149
Proteasas, inducidas por estrés, 1148
Proteína
  14-3-3, 797
  AAPK, quinasa activada por ABA, 1056
  ABP1, 865-866
  ABP1, 685
  ACP, transportadora de grupos acilo, 468, 469f, 470-471
  AGR1, 852
  AHP, 982-983
  ARF, 685
  CCA1, asociada al reloj circadiano, 747, 748-749
  CLV3, 681
  COP1, constitutiva de morfogénesis, 750
  CTR1, 1022, 1024
  D1, 225f, 236, 255, 339
  D2, 236
  EIN2, 1022
  EIN3, 1022, 1024
  EREBP, de unión a ERE, 1023
  Fe, 508
  GAI, 919, 920, 921-922, 923-925, 934
  GFP, de fluorescencia verde, 750
  GNOM, 683-685
  GRP, rica en glicina, 606
  H, 285
  Hpt, histidina fosfotransferasa, 982-983
  HY5, 750
  KN1, 674-676
  L, 285
  LEA, 1038, 1148, 1149-1150t
  LHY, de elongación tardía del hipocotilo, 747, 748-749
  MoFe, 508
  P, 285
  PP1, 368
  PP2, 368, 410-411
  PRP, rica en prolina, 606
  psaA, 244
  psaB, 244
  psbS, 255
  quinasa CK2, 749
  quinasa CLV1, 682
  RAN1, 1019
  relacionada con MYB, 747
  RGA, 919, 920, 921-922, 923-925, 934
  SPA1, 750
  SPY, 934
  T, 285
  TOC1, 748
  URF13, 460
  VP1, 1044
Proteína(s)
  amarillo camaleón, 1052

  ancladas, 10, 11f
  asociadas con las membranas, 10, 9f, 11f
  cloroplastos, 224-225
  desacopladora, 453
  ferrosulfurada de Rieske (FeS_R), 241
  filamentosa del floema, 368
  fosfatasa ABI, 1056-1058
  mitocondriales, 25
  que impiden la digestión, 566
  savia del floema, 375
  secreción, 17-19
  síntesis, 14-18, 15f
  transporte a largas distancias por el floema, 410-411
Proteínas
  ARR Tipo A, 982, 983-984
  ARR Tipo B, 983-984
  abundantes en la embriogénesis tardía (LEA), 1038, 1148, 1149-1150t
  afines de choque térmico, 1159
  anaeróbicas del estrés, 1188-1189
  antena de clorofila *a/b*, 230
  anticongelantes, 1166, 11171
  AUX1/IAA, 867-870
  de arabinogalactanos (AGPs), 607-608, 682
  de choque térmico (HSPs), 1148, 1157-1160, 1171
  sensores de oxígeno, 788
  sensores del voltaje, 788
  de histéresis térmica (THPs), 1171
  del complejo de captura de la luz I (LHCI), 230, 230f
  del complejo de captura de la luz II (LHCII), 230, 230f, 256
  del movimiento, 411, 689
  de unión de auxinas (ABPs), 841-843, 865
  estructurales, en las paredes celulares, 594, 606-608
  fosfatasa, 38, 832-833
  globulares, 40
  histona, 12
  integrales, 10, 11f
  integrales de membrana, en tilacoide, 224, 232, 233f
  KNOTTED1, 674-676
  motoras, 35
  periféricas, 10, 11f
  que interfieren la digestión, 566
  reguladoras, señalización célula a célula, 688
  reguladoras de la respuesta, 755-756
  relacionadas con la patogénesis (PR), 572, 1172
  secretoras, 17, 18
  sensores proteicos, 755
Proteínas de transporte a través de membrana
  acuaporinas, 186
  análisis cinéticos, 182-184
  bombas de calcio, transportadores antiporte y canales, 191
  H^+-ATPasa de la membrana plasmática, 186-189
  H^+-ATPasa vacuolar, 178, 189-191
  H^+-pirofosfatasa vacuolar, 191
  identificación, aislamiento y clonación de genes, 184-186
  proteínas formadoras de canales, 174-176
  proteínas transportadoras, 175f, 177
  transportadores simporte y antiporte, 179
  visión general, 173-174
Proteínas exportadoras de aniones auxina, 828-829. *Véase también* proteínas PIN
Proteínas G
  señalización del fitocromo, 752-753
  transducción de señal de giberelinas, 933
Proteínas homeodominio, 674
Proteína P, 285, 410
  elementos del tubo criboso, 368-369
  savia del floema, 375
Proteínas PIN, 684, 685
  como proteínas exportadoras de auxinas, 828-829
  recirculación a y desde la membrana plasmática, 828-829, 828ff
  redistribución lateral de las auxinas en las raíces, 854-855, 854f
Proteína quinasas
  dependientes de ciclina (CDKs), 38, 916, 964-965

  proteínas exportadoras de auxinas, 832-833
  regulación del ciclo celular, 37-38
  rutas de desarrollo, 676-677
  serina/treonina, 1021-1022
  transducción de señal del ácido abscísico, 1055-1056
Proteasoma, 38, 720
Protoclorofila, 27
Protodermis, 642, 646
Protofilamentos, 30
Protón ATPasas
  activación irreversible, 796
  despolarización de la membrana, 1053
  en las membranas plasmáticas de las células guarda, 779-782
  salida de protones inducida por auxinas, 839-843
  transporte de sodio, 1179-1180
  Véase también Bombas de protones
Protón-pirofosfatasa, 178, 191
Protonema, 968
Protones, pH citosólico, 171
Protoporfirina IX, 259f
Protoxilema, 506
Provacuolas, 20-21
Prunus
  cerasus, 191t
  pensylvanica, 1169
  virginiana, 1169
Pseudomonas
  savastanoi, 816
  syringae, 1169
PSI. *Véase* Fotosistema I
PSII. *Véase* Fotosistema II
Psicrómetro, 623
Psilocibina, 559t
Psoraleno, 547f
Pteridofitas, 712t
Pterinas, 490, 787-788
Pubescencia, 1146
Puentes de hidrógeno, en el agua, 54, 56
Puentes electrostáticos, 515-516, 515f
Pueraria lobata, 337
Puertas, 175
Pulvino, 324, 736, 735f
Punteadura de membrana, en el xilema, 89
Punto de compensación de la luz, 328
Punto de compensación de la temperatura, 1154
Punto de marchitez permanente, 84, 1143
Puntos de luz, 326

Q

Q_A, 240
Q_B, 240
Quelantes, 125
Quelantes de hierro, liberados por las raíces, 517, 518
Queratinas, 31
Quercitina, 829f
Quercus
  emisión de hidrocarburos, 337
  estrés hídrico, 1144
  período juvenil, 1085t
Quercus robus, 1085t
Quimeras periclinales, 678-679
Quimiotaxis, 503
Quinasas, 753
Quinesinas, 35
Quinetina, 947
Quinoa blanca, 724
Quinolizidina, 559t
Quinonas, 240, 243, 556
Quitina, 572
Quitina oligosacárido, 504-505
Quitina oligosacárido sintasa, 504

R

Rábano, 494f, 975f
Radiación fotosintéticamente activa (PAR), 319
Radical hidroxilo, en la respuesta hipersensible, 571
Rafinosa, 376f, 377, 393f, 394

Raíces adventicias, 660, 859
Raíces anóxicas
  absorción de agua, 87
  daño, 1182-1184
daño a los tallos, 1184-1185
Raíces de refuerzo, 143
Raíces laterales
  inducidas por auxinas, 859-861
  origen, 666
Raíces nodales, 143
Raíces primarias, 143
  gen *MONOPTEROS*, 647-649
  gravitropismo, 849-851
Raíces seminales, 143
Raíz
  absorción de agua, 84-88
  absorción de nutrientes iónicos, 147-148
  adaptaciones a los suelos saturados de agua, 1185-1186
  ajuste osmótico al déficit hídrico, 1141-1143
  asimilación de hierro, 516-518
  asimilación de nitrato, 490-493
  biosíntesis de giberelinas, 901
  carencia de calcio, 130
  carencia de potasio, 129
  crecimiento inducido por auxinas, 836-837
  crecimiento inducido por etileno, 1003f
  deficiencia de oxígeno, 1180-1189
  estructura general, 3f
  estructura y extensión, 3f, 143
  etileno y formación del pelo radical, 1008-1009
  función, 2
  gravitropismo, 851-856
  microrrizas, 149-152
  patrón radial, 642, 686-689
  permeasa AUX1, 833f, 834
  pivotante, 144, 145f
  rizosfera, 143
  síntesis del ácido abscísico, 1034, 1035-1036
  síntesis y transporte de citoquininas, 959-960
  transporte no polar por el floema, 833-834
  transporte polar de auxinas, 822-823
  zona de agotamiento de nutrientes, 149
  zona de elongación distal, 853
Ramnogalacturonano I (RG I), 592f, 601f, 602, 603
Ramnogalacturonano II (RG II), 603
  α-L-ramnosa, 595f
Ranunculus sceleratus, 1008
Rayos, 660
Reacción de Hill, 219
Reacciones anapleróticas, 439
Reacciones del estroma, 219, 223
Reacciones en los tilacoides, 207, 219
Receptor de la citoquinina CRE1, 951, 978-979, 981, 982-983
Receptor de la ferredoxina, 256
Receptores
  de ácido abscísico, 1048-1049
  de auxinas, 865-866
  de la proteína quinasa, 676-677
  del estiramiento, 850
  ferredoxina, 256
  hormonas, 807
  SRP, 17
  Tensión, 850
  Véase también Receptores de citoquininas; Receptores de etileno
Receptores de citoquininas
  CRE1, 951, 978-979, 981, 982-983
  identificación, 977-979
Receptores de etileno, 1012, 1024
  caracterización, 1016-1019
  cofactor de cobre, 1019
  ERS1, 1018
  ETR1, 1017-1019, 1024
  ETR2, 1018
  regulación de la ruta negativa, 1020-1021
Recuperación después de una herida, 863, 863f
Red de Golgi *trans*, 18
Red de Hartig, 150
Reducción, ciclo del carbono, 270, 274-275
Reductasa quelante de hierro, 517

Regeneración, auxinas, 863, 863f

Regnellidium diphyllum, 1008

Regulación autónoma, 1080

Regulación de la temperatura, y transpiración, 52, 53

Regulación epigenética, 1110

Regulación génica
- ácido abscísico, 1058-1060
- auxinas, 865-870
- epigenética, 1110
- etileno, 1022-1023
- fitocromo, 745-757, 755f
- luz del azul, 773-774
- sistemas fuente-sumidero, 409

Regulación por acumulación de sustratos y productos, de la respiración, 454-457

Rejuvenecimiento, 1083-1085, 1086

Relación ABA/GA, dormición de la semilla, 1041-1042

Relación ADP/O, 444

Relación de Bowen, 336

Relación fuente-sumidero, 408

Relación raíz/tallo, ácido abscísico, 1045-1047, 1046f

Relajación de la tensión, 618, 621

Relojes biológicos
- «genes del reloj», 748
- hipótesis del reloj, 1100-1101
- ritmos circadianos, 1090-1092
- sincronización, 1092-1093

Remolacha
- crecimiento estimulado por giberelinas, 890
- floema, 387f, 389f
- fuentes y sumideros, 371-372
- transición de sumidero a fuente en hojas, 400-401
- *Véase también Beta vulgaris*; Remolacha azucarera

Remolacha azucarera, 371-372
- inhibición de la caulescencia por ingeniería genética, 910-911
- pérdida de agua y ganancia de carbono, 1142f
- transición de sumidero a fuente en hojas, 400-401
- *Véase también Beta vulgaris*

Remolacha silvestre, 372

Rendimiento cuántico, de la fotosíntesis, 218, 329, 352

Reparto
- competición entre tejidos sumidero, 405-406
- de fuente a sumidero, 408
- definición, 402
- entre fotosistemas, 255-256
- entre los tejidos sumidero, 403
- fuerza del sumidero, 406-407

Represores DELLA, 921, 922, 923

Reserpina, 559t

Resistencia a la congelación, 1167-1169

Resistencia a la difusión
- resistencia de la capa de aire estacionaria, 101-102
- resistencia estomática, 101, 103-109
- transpiración, 100

Resistencia a la sequía
- disminución del área foliar, 1133-1134
- efectos de las condiciones climáticas y del suelo, 1131-1132
- tipos, 1131

Resistencia al estrés, 1129

Resistencia de la capa de aire estacionaria, 101-102
- difusión del dióxido de carbono, 341-344

Resistencia de la fase líquida, 343

Resistencia del espacio aéreo intercelular, 343

Resistencia del mesofilo, 343

Resistencia estomática, 101, 103-109
- difusión del dióxido de carbono, 343

Resistencia sistémica adquirida (SAR), 575-576

Resonancia electrónica de espín, 236

Respiración
- ciclo del ácido cítrico, 436-439
- disminución de la energía libre, 420-421
- ecuaciones generales, 420, 423
- en oscuridad, 458

- en plantas enteras y tejidos, 458-463
- glicólisis, 424-434
- inducida por etileno, 459
- mitocondria, 21
- mitocondrial, 458
- punto de compensación de la temperatura, 1154
- regulación, 454-457
- relación con otras rutas, 457
- rendimiento total de ATP, 449-450
- transporte de electrones y síntesis de ATP, 440-457
- visión general, 419-424

Respiración aeróbica,
- definición, 419
- rendimiento total de ATP, 449-450

visión general, 419-424
- *Véase también* Respiración

Respuestas a alta irradiancia (HIRs)
- comparación con otras respuestas, 740t
- duración de la irradiancia, 727-728
- espectro de acción de plantas verdes, 729-730
- espectro de acción de plántulas etioladas, 728-729
- estimulación de la floración por la luz del rojo, 1105-1106

Respuesta forzada, 1080

Respuesta hipersensible, 570-572, 699

Respuesta para evitar la sombra, 731-732, 738

Respuestas a la luz del azul
- apertura estomática, 774-779
- cinéticas y período de latencia, 781-782
- criterios de identificación, 765-770
- diferencias con la respuesta al fitocromo, 765-767
- fotofisiología, 786-794
- fototropismo, 767-770
- inhibición de la elongación del tallo, 771-773
- mutante *npq1*, 792-794
- plantas sensibles a la dirección de la luz, 770-771
- regulación de la expresión génica, 773-774
- regulación de las relaciones osmóticas de las células guarda, 782
- transducción de señal, 794-799
- visión general, 765-767

Respuestas cualitativas, 1080

Respuestas cuantitativas, 1080

Respuestas del fitocromo
- a bajas fluencias, 726, 727-728, 740t
- distinción por las necesidades luminosas, 724-725
- respuestas de alta irradiancia, 727-728
- respuestas de baja fluencia fotorreversibles, 726-727, 727f
- respuestas de muy baja fluencia no fotorreversibles, 726, 739-740
- tipos, 723
- variabilidad en el período de latencia y tiempo de escape, 724

Respuestas facultativas, 1080

Retama de brujas, 952

Retículo endoplásmico
- biosíntesis de giberelinas, 893t, 894-896
- calcio, 191
- estructura y función, 14, 16f, 17
- gravitropismo, 850
- isozima desaturasa, 469
- nodal, 850, 851
- plasmodesmos, 39
- prolina hidroxilasa, 519
- proteína de unión a auxinas, ABP1, 865-866
- receptores de etileno, 1019
- síntesis de glicerolípidos, 468-470

Retículo endoplásmico liso, 14, 16f
- áreas cribosas, 365-366
- oleosomas, 29f

Retículo endoplásmico nodal, 850, 851

Retículo endoplásmico rugoso (RER), 14, 16

Retraso de la desecación, 1131

Retrosina, 559t

Rhizobia, 499, 499t, 500t
- eficiencia en la fijación del nitrógeno, 509

formación del nódulo, 503-507
Rhizobium, 499, 499t, 500t
  etli, 500t
  leguminosiarum bv *phaseoli*, 500t
  leguminosiarum bv *trifolii*, 500t
  leguminosiarum bv *viciae*, 500t, 504
  meliloti, 504
  tropicii, 500t
Rhizophora, 462
Rhodobacter, 227
Rhodopseudomonas, 499t, 500t, 502
Ribosa-5'-fosfato, 273f, 276, 432
Ribosa-5'-fosfato isomerasa, 274t
Ribósido
  de citoquininas, 949
  de dihidrozeatina (DZ), 949f, 951, 959-960
  de zeatina, 559-960, 971
Ribosomas, 13, 16f
Ribótidos de citoquininas, 949
Ribulosa bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (rubisco)
  ciclo de Calvin, 272, 273f, 274t
  ciclo fotosintético C_2 de oxidación del carbono, 285t
  como factor limitante de la fotosíntesis, 316-317
  distribución en hojas, 346-348
  estrés por calor, 1155-1156
  fotorrespiración, 283
  isótopos del carbono, 350
  regulación por la luz, 280-282
  temperatura, 287-288
Ribulosa-1,5-bisfosfato (RuBP) , 316
  ciclo de Calvin, 271-272, 273f, 275f
  fotorrespiración, 283, 284f
Ribulosa-5-fosfato, 273f, 276, 432, 433f
Ribulosa-5-fosfato epimerasa, 273f, 274t
Ribulosa-5-fosfato isomerasa, 273f, 274t
Ribulosa-5-fosfato quinasa, 274t, 281
Ricino
  composición de la savia del floema, 374t
  metabolismo de lípidos, 474f, 475
Ricinus communis, 374t
Risitina, 573f
Ritmos circadianos
  características identificadoras, 734, 1090-1092
  control de la floración por la luz del azul, 1106-1107
  disminución de la amplitud, 737
  cambio de, 1092
  expresión génica, 737
  fitocromo, 734-738
  floración en plantas de día largo, 1105-1106
  fotoperiodismo, 1100-1101
  genes del reloj circadiano de *Arabidopsis*, 737-738
  movimientos nictinásticos de las hojas, 734-738
  regulación de los genes *LHCB*, 747-748
  señales que afectan a la determinación, 1091-1092
Ritmos libres, 1090
Rizomas, 1187
Rizosfera, 143
  acidificación de la raíz y asimilación de hierro, 516-517
RNA de transferencia de citoquininas
  biosíntesis, 956f, 957-958
  bases «hipermodificadas», 951
RNA mensajero (mRNA)
  señalización célula a célula, 688-689
  reguladores negativos de la señalización del ABA, 1060-1061
  síntesis de proteínas, 17, 15f
RNA ribosómico (rRNA), 14
Roble. *Véase Quercus*
Roble americano, 337
Roble inglés, 1085t
Rosa, 1085t
Rosáceas, 816
Roscoe, H. E., 727
Rotenoides, 554
Rubisco. *Véase* Ribulosa bisfosfato carboxilasa/oxigenasa
RuBP. *Véase* Ribulosa-1,5-bisfosfato

Rudbeckia, 553f
Runex, 191t
Ruta
  de glicerolípidos en eucariotas, 471
  de glicerolípidos en procariotas, 471
  del ácido siquímico, 543, 544f
  de la floración autónoma/vernalización, 1119f, 1120
  de las pentosas fosfato, 421, 456f
  de la triptamina, 815
  del metileritritol fosfato (MEP), 537f, 538
  IAN, 815-816
  IPA, 815
  malónica, 543, 544f
  oxidativa de las pentosas fosfato, 431-434
  TAM, 815
  terpenoide, de la biosíntesis de las giberelinas, 892-896
  transmembrana, 85
Rutas de desarrollo
  célula a célula, 681-689
  genes de factores de transcripción, 674-676
  principales claves, 673
  proteína quinasas, 676-677
  redes de interacciones génicas, 679-681
  Véase también Embriogénesis; Desarrollo floral; Crecimiento y desarrollo; Crecimiento y desarrollo radical; Desarrollo de la semilla
Rutas de fuente a sumidero, 372-374
Rutas de transducción de señal
  «cruce», 1061
  ácido abscísico, 1047-1061
  calcio, 745
  citoquininas, 977-984
  estimuladas por patógenos, 573-575
  etileno, 1016-1024
  fitocromo, 752-757
  giberelinas, 925-936
  gravitropismo radical, 855-856
  regulación génica indepenediente de ABA, 1152
  relacionada con las auxinas, 865
  respuestas a la luz del azul, 794-799

S
Sacarosa
  caña de azúcar, 890
  carga del floema, 386-397
  cinéticas del transporte, 182-184
  descarga del floema, 397-400
  cambio de fase, 1085-1086
  estructura, 376f, 427f
  floración, 1119f, 1120
  glicólisis, 425, 426f
  osmorregulación de las células guarda, 782, 783f, 784
  regulación de las fuentes y sumideros, 409
  rendimiento total de la respiración aeróbica, 449-450
  savia del floema, 375
  tolerancia a las heladas, 1166
  transporte a corta distancia, 387
Sacarosa fosfato fosfatasa, 304t
Sacarosa fosfato sintasa, 304t, 405
Sacarosa sintasa, 407, 425, 426f, 597, 599f
Sacarosa-6-fosfatasa, 305
Sacarosa-6-fosfato fosfatasa, 305
Sacarosa-6-fosfato sintasa, 305
Saccharum officinarum, 890
Sachs, Julios von, 121
Saco embrionario, 639
Sal, acumulación en suelos, 1173
Sales sódicas, 1173
Salida de protones inducida por auxinas, 839-843
Salinidad, 1173
Salinización, 142
Salix, 1169
SAM, 994
Samanea, 736, 744, 1093
Saponinas, 542, 570
Sassure, Nicolas-Théodore, 121
Saturación hídrica, efectos sobre la respiración, 461-462

Sauce, 339, 1169
Sauromatum guttatum, 452
Savia, 368
Savia del floema, 374-379
Schoenoplectus lacustris, 1187
Scirpus maritimus, 1187
SDPs. *Véase* Plantas de día corto
Secuoya, 1085t
Sedimento, 139-140
Sedoheptulosa-1,7-bisfosfatasa, 273f, 274t, 279
Sedoheptulosa-1,7-bisfosfato, 273f, 276
Seguimiento solar, 324
Selenio, 121
Semilla
  contenido hídrico, 51-53
  embriogénesis, 639
  etileno y dormición, 1008
  maduración del fruto, 1000-1002
  niveles de ácido abscísico, 1037
  oleosomas, 465-466
Semillas oleaginosas
  metabolismo lipídico, 473, 475
  síntesis de glicerolípidos, 468-470
Sempervivium, 1153
Senescencia
  ácido abscísico, 1047
  citoquininas, 971-972
  definición, 699
  muerte celular programada, 698-699
  proceso, 698
  tipos, 696-697
  visión general, 695-696
Senescencia foliar. *Véase* Senescencia
Senescencia monocárpica, 697, 971
Sensor histidina quinasa, 977-979
Señal de localización nuclear, 12, 15f
Señal de transducción de señal estimulada por patógenos, 573-575
Señalización
  célula a célula, 682-689
  hidrofóbica, 1018
  hormonal, 683-686
  inducida por ligando, 682-683
Sequoia sempervirens, 92, 1085t
Serina, 284f
Serina acetil transferasa, 512
Serina hidroximetiltransferasa, 285t
Sesquiterpenos, 537, 538, 572, 573f
SHAM, 452
Silene, 1113
Silicatos, 140
Silicio
  carencia, 129
  funciones bioquímicas en las plantas, 120t
  niveles en los tejidos vegetales, 119t
Simbiosis, 139
Simplasto
  carga del floema, 388-389, 388f, 393-396
  descarga del floema, 397, 398f
  movimiento iónico, 191
  plasmodesmos, 194
  señalización célula a célula, 688-689
Sinapilo, 548
Sinapis
  respuestas del fitocromo, 712t, 728, 729
  transporte del estímulo floral, 1102-1103
Sinapis alba, 728, 729
Sincronización, 734, 749, 1090, 1092-1093
Sinorhizobium, 499, 499t, 500t
  fredii, 500t
  meliloti, 500t
Sintaxinas, 654
Síntesis de almidón
  cloroplastos, 301, 302f, 303t
  competición con la síntesis de la sacarosa, 306-308
  efectos de la temperatura sobre el proceso, 352
  asignación de fotoasimilados, 402-405
Síntesis de ATP
  asimilación de fosfato, 514
  flujo cíclico de electrones, 245
  fosforilación a nivel de sustrato, 426f, 427
  fosforilación oxidativa, 422, 440, 443-449
  fotofosforilación, 247-251
  fotosíntesis, 219
  metabolismo fermentativo, 429

Síntesis de giberelinas
  efectos mediambientales de la transcripción génica, 902-907
  enzimas, 896
  fitocromo, 734
  inhibidores, 891, 895, 896
  promovida por auxinas, 907-910
  regulación, 902
  ruta terpenoide, 892-896
  tejido activo, 902
Síntesis de IAA
  dependiente de triptófano, 815-816
  independiente de triptófano, 816-817, 818f
Síntesis de sacarosa
  competición con la síntesis de almidón, 303-304t, 306-307
  efecto de la temperatura, 352
  en el citosol, 304-306, t
  asignación de fotoasimilados, 402-405
Sistema de crecimiento con almacenamiento de nutrientes, 121, 123
Sistema de transporte férrico-fitosideróforo, 517
Sistema ferredoxina-tiorredoxina, 279-280, 434
Sistema radicular fibroso, 144
Sistemas de tejidos, 2-5, 3f, 4f, 6f
Sistemina, 567, 569
Skoog, Folke, 858, 947
Slack, C. R., 291
Sodio
  acumulación en el suelo, 1173-1174
  carencia, 131
  células vegetales, 169
  compartimentalización en la vacuola, 1177-1178
  efectos tóxicos, 1176
  funciones bioquímicas en las plantas, 120t, 131
  incorporación por la raíz, 1176
  niveles en tejidos vegetales, 119t
  transporte a través de la membrana plasmática y del tonoplasto, 1179-1180
  transporte fuera de las células, 182
Soja
  estudios del estímulo floral mediante injertos, 1112-1114
  estrés hídrico inducido por la posición de la hoja, 1145f, 1146
  formas de transporte de nitrógeno, 509-510
  gravitropismo en hipocotilos, 847-848
  nódulos radicales, 500f, 502
  período de latencia para el crecimiento inducido por auxinas, 837-838
  período oscuro, 1099
  proteínas de choque térmico, 1157
  rendimiento de cultivos, 113t
  rhizobia, 499t, 500t
  senescencia monocárpica, 696f
  transferencia de fotoasimilados, 374
  Véase también Glicine max
Solanáceas, 816
Solución
  de cultivo, 121-123
  de Hoagland, 123-125
  de Hoagland modificada, 123-124
  del suelo, 138-140
Soluciones nutritivas
  formulaciones, 123-125
  hidropónicas, 121-123
Solutos, potencial hídrico, 64-65
Solutos compatibles, 1141
Sondas de presión, 623
Sorbitol, 1141
Sorghum bicolor, 1140f
Sorgo
  efectos del estrés hídrico, 596f
  glucósidos cianogénicos, 562
Spinacia oleracea
  floración inducida por giberelinas, 1118
  proteínas anticongelantes, 1166
  regulación de la biosíntesis de giberelinas por el fotoperíodo, 906
Staehelin, Andrew, 850
Stellaria media, 494f
Suaeda maritima, 1175
Suberina, 85

  - composición química, 532-533
  - funciones, 533
  - localización, 529, 532-533
- Succinato, 474f, 476
- Succinato deshidrogenasa
  - cadena de transporte electrónico, 441f, 442
  - ciclo del ácido cítrico, 437f, 438
- Succinil CoA sintetasa, 437f, 438
- Suelos
  - acumulación de metales pesados, 142
  - acumulación de sales, 1173-1174
  - capacidad de campo, 80
  - características físicas, 79-84
  - conductividad hidráulica, 83
  - fertilizantes, 136-137
  - nutrición mineral de las plantas, 138-141
  - salinización, 142
- Suelos arcillosos
  - capacidad del suelo, 80
  - características físicas, 79-84
  - conductividad hidraúlica, 83
- Suelos arenosos
  - capacidad de campo, 80
  - características físicas, 79, 80t
  - conductividad hidraúlica, 83
- Suelos encharcados
  - absorción de agua, 86
  - actividad de los microorganismos anaeróbicos, 1181-1182
  - adaptaciones de las plantas, 1185-1187
  - efectos sobre la respiración, 461-462
  - epinastia, 1004-1005
  - metabolismo fermentativo, 429
- Suelos salinos, 142
- Sulfato
  - asimilación, 511-514
  - yeso, 141
- Sulfato sódico, 142
- Sulfito, 511-512, 511f
- Sulfito reductasa, 512
- Sulfolípidos, 466t, 467f
- Sulfuro, 512
- Sumidero
  - competición por los fotoasimilados, 405-406
  - descarga del floema, 379, 397-400
  - fuerza, 406-407
  - asignación y reparto de los fotoasimilados, 402-404, 405-411
  - señalización a larga distancia, 408-411
  - transición de fuente a sumidero en hojas, 400-401
- Superenfriamiento, 1168
- Superenfriamiento profundo, 1168
- Superóxido, 247, 255, 518
  - estallido oxidativo, 629
  - respuesta hipersensible, 573
- Superóxido dismutasa (SOD), 255, 1188
- Suspensor, 644
- Sustancias crioprotectoras, 1168
- Sustancias similares a las giberelinas, 883
- Sustrato 1 de la fitocromo quinasa (PKS1), 756
- *Synechococcus elegantes*, 238f
- *Synechocytis*, 257

T

- 2,4,5-T, 1013
- Tabaco
  - antiflorígeno, 1115
  - citoquininas y crecimiento radical, 962-964, 963f
  - citoquininas y senescencia de la hoja, 971-972
  - determinación floral, 1086-1089
  - distribución de IAA en células, 822
  - estudios del estímulo floral mediante injertos, 1112-1114
  - fitoalexinas, 572
  - regulación de la glicólisis, 430
  - respuesta de la pared celular a patógenos, 629-630
  - sección tranversal del tallo, 604f
  - síntesis de citoquininas y transporte, 959
  - transición de fuente a sumidero en hojas, 400-401

Véase también Tabaco Maryland Mammoth
Tabaco Maryland Mammoth, 1095f
  antiflorígeno, 1115
  estudios del estímulo floral mediante injertos, 1112
  respuestas fotoperiódicas, 1095-1096
Tabaco transgénico, lípidos de membrana y sensibilidad a la congelación, 472
Tallo
  crecimiento inducido por auxinas, 835-837
  estructura general, 3f
  función, 2
  período de latencia para el crecimiento inducido por auxinas, 837-838
  transporte de auxinas por el parénquima vascular, 837
  Véase también Vástago
Tamaño del sumidero, 406
Tamarix, 1177
Taninos, 554-557
  condensados, 555
  hidrolizables, 556
Tasa
  de crecimiento elemental relativa, 695
  de fluencia, 317t, 317
Tasas respiratorias
  de toda la planta, 454
  factores ambientales que les afectan, 461-463
  variabilidad de tejidos y órganos, 459
T-DNA, 954f, 955-957, 967, 976
Tejido
  calloso, 945
  dérmico, 3f, 6f
  fundamental, 3f, 6f, 649
  vascular 3f, 6f
Tejido vascular
  diferenciación, 863-864
  gen *MONOPTEROS*, 647-648
  procambium, 646
  raíces, 143-147
  transporte del ácido abscísco, 1035-1036
Telofase, mitosis, 33f
Temperatura foliar
  estrés hídrico, 1144-1146
  estrés por calor, 1153-1154
  regulación, 335
Temperatura(s)
  efectos sobre la biosíntesis de giberelinas, 906-907
  efectos sobre la fotosíntesis, 352-355
  efectos sobre la respiración, 287-288
  muerte por calor, 1153
  óptima de respuesta, de la fotosíntesis, 354
  vernalización, 1080
  Véase también Daño por congelación; Estrés por calor
Tensión, 57, 65
  superficial, 57
Teoría de la cohesión-tensión para el ascenso de la savia, 93
Termotolerancia
  inducida, 1152
  proteínas de choque térmico, 1160
Terpenoides. *Véase* Terpenos
Terpenos o terpenoides, 464
  crecimiento y desarrollo, 538-539
  estructura, 536
  funciones de defensa, 539-542
  rutas biosintéticas, 537f, 538
Tetrapirrol, 260
Tetraterpenos, 537f, 538
Thermopsis montana, 322f
Thiman, Kenneth V., 858
Thlapsi arvense, 907
TIBA, 829, 832, 858
Tidestromia oblongifolia, 1154-1155
Tidiazurón, 950
Tigmotropismo, 843
Tilacoides, 23f, 24
  distribución de la energía entre los fotosistemas, 255
fotosíntesis, 206
  organización, 223
  oxidación fotosintética del agua, 237-239

  - proteínas integrales de membrana, 224
  - separación espacial de los fotosistemas I y II, 225-227
- Tioglucosidasa, 564
- Tiosulfato de plata, 472
- Tolerancia
  - a la congelación y ácido abscísico, 111169-1171
  - a la congelación por limitación de la formación del hielo, 1166-1167. *Véase también* Aclimatación al frío
  - a la desecación, 1037-1038, 1131
  - a la deshidratación, 1141
  - al estrés, 1129-1130
- Tomate
  - maduración del fruto inducida por etileno, 1002
  - meristemos alargados, 685-686
  - mutante *amarilo-verde*, 718
  - mutantes del ácido abscísico, 1033
  - resistencia a la congelación, 1163f
  - ruta IAN, 815-816
- Tonoplasto, 20, 170
- H+-ATPasa vacuolar, 189-191
  - procesos de transporte, 181f
  - transporte de sodio, 1179-1180
- Toro, 89, 90f
- Totipotencia, 669
- Toxicidad
  - amonio, 490
  - nitrato, 489
  - salinidad, 1173
  - sodio, 1173
  - *Véase también* Fototoxicidad
- Toxina HmT, 460
- Traducción, 14, 15f
- Transaminación, 495f, 497
- Transcetolasa, 273f, 274t, 276
- Transcripción, 14, 15f
- regulada por la luz, 749-750
- Transducción de señal del ácido abscísico
  - aumento de las concentraciones de calcio citosólico, 1050-1052
  - despolarización de la membrana, 1053-1054
  - metabolismo de fosfolípidos, 1054-1055
  - proteína quinasas y proteína fosfatasas, 1055-1056
  - receptores del ácido abscísico, 1048-1049
  - regulación de la expresión génica, 1058-1060
  - reguladores negativos, 1056-1058, 1060-1061
  - rutas independientes de calcio, 1058
- Transducción de señal del etileno
  - ordenación de los componentes de señalización, 1024
  - proteína transmembrana EIN2, 1022
  - receptores de etileno, 1016-1023
  - regulación de la expresión génica, 1022-1023
  - serina/treonina proteína quinasa, 1021-1022
  - uso de los mutantes de la triple respuesta para estudios, 1015
- Transferencia de energía
  - entre los pigmentos antena, 228-229
  - por la clorofila, 209
  - por resonancia, 228
- Transglicosilasas, 628
- Transición de fuente a sumidero, 400-401
- Transpiración
  - cuticular, 532-533
  - definición, 53
  - diferencia en la concentración de vapor de agua, 100
  - difusión del vapor de agua fuera de las hojas, 99-100
  - principales factores que lo controlan, 100-103
  - regulación por la temperatura, 53, 55
  - resistencia a la difusión, 101-103
- Transpiración cuticular, 1144
- Transportador, 181f
- ADP/ATP, 447, 448f, 449
  - análisis cinético, 182
- antiporte, 179, 175f, 187
- antiporte AtNHX1, 1180
  - antiporte protón-calcio, 186, 192
  - antiporte sodio-protones, 180-181, 1180

  - antiporte SOS, 1180
  - de auxinas, AUX1, 827-828, 829-830, 832-833, 833f
  - de electrones Y_Z, 239
  - de fosfato, 303t, 305, 447, 448f, 449
  - de sodio-potasio, 1178
  - fosfato/triosa fosfato, 303t
  - HKT1, 1178
  - N-RAMP, 1022
  - proteínas, 175f, 95-96
  - simporte, 179, 181f, 186
  - simporte protón-auxinas, 827
  - simporte protón-fosfato, 514
  - simporte protón-sulfato, 511
  - simporte de sacarosa y protón, 390-393, 401, 409
  - *SUC2*, 391-392, 410
  - SUT1, 392, 393, 410
- Transportador simporte H^+/IAA^-. *Véase* Transportador simporte protón/auxinas
- Tranportadores
  - ABC, 181f, 192
  - de casete de unión al ATP, 178, 181f, 192
- Transporte, 159, 596
  - activo primario, 177, 180
  - activo secundario, 178, 179f, 180
  - electrogénico, 178
  - electroneutro, 178
  - *Véase también* Transporte por el floema
- Transporte a corta distancia
  - de sacarosa, 387
  - descarga del floema, 397
- Transporte acropétalo de auxinas, 823, 825
- Transporte activo
  - bombas electrogénicas, 171, 178
  - definición, 160
  - ecuación de Nernst, 167-168
  - hidrólisis de ATP, 178-179
  - primario, 177
  - proteínas transportadoras, 177
- Transporte antiporte de calcio, 192
- Transporte basipétalo de auxinas, 823-825
- Transporte de agua, 58-59
  - absorción por las raíces, 84-88
  - acuaporinas, 59
  - de las hojas a la atmósfera, 97-109
  - difusión molecular, 60-62
  - efecto sobre la fuerza que lo dirige y sobre la conductividad hidráulica, 69-70
  - flujo de masas en el suelo, 83
  - flujo de masas que genera la presión, 88-97
  - osmosis y gradientes de potencial hídrico, 63-68
  - presión de turgencia, 69
  - transpiración foliar, 88-97
  - visión general de la continuidad suelo-planta-atmósfera, 82f, 110-111

- Transporte de auxinas
  - flavonoides, 832-833
  - inhibidores del transporte de auxinas, 829
  - transporte no polar por el floema, 833-834
  - transporte polar, 822-829
  - uso cíclico de PIN, 830-831, 831f
- Transporte de electrones (en la fotosíntesis)
  - centro de reacción del fotosistema II, 236, 237f
  - clorofilas del centro de racción, 236
  - complejo citocromo b_6f, 241-243
  - complejos integrales de membrana, 232-233, 233f
  - esquema en Z, 231-233
  - excitación de la clorofila y reducción de la proteína transportadora de electrones, 233-235
  - feofitina y plastoquinonas, 239-240
  - flujo cíclico de electrones, 245
  - fotoasimilación, 521-522
  - herbicidas, 246-247
  - localización en las membranas de los tilacoides, 225-227
  - oxidación del agua, 237-239
  - proteínas transportadoras entre los fotosistemas I y II, 243
  - reducción del nitrito, 492
  - reducción de NADP$^+$, 245
  - visión general, 231

Transporte de electrones (en la respiración)
  enzimas únicas en las plantas, 442-443
  organización, 441-442, 441f
  transporte de intercambio de sustratos y productos, 447, 448f, 449
  visión general, 422, 440-442
Transporte de membrana
  movimiento iónico, 160-173
  procesos de transporte, 173-182
  transporte de proteínas, 173-174, 182-193
Transporte de nitrato, 141
Transporte de protones, potencial de membrana, 171-173
Transporte de solutos
  activo y pasivo, 160-173
  membrana plasmática, 159, 181f
  movimiento inónico a través de las membranas barrera, 164-173
  principales fuerzas motoras, 160
  procesos de transporte a través de las membranas, 173-182
  proteínas de transporte a través de las membranas, 182-193
  transporte iónico en la raíz, 193-198
Transporte iónico
  a través de las membranas barreras, 164-173
  distinción entre el equilibrio y el estado estacionario, 167
  visión general del proceso a través de la membrana plasmática y del tonoplasto, 181f
  Véase también Transporte de solutos
Transporte pasivo
  a través de membranas, 160-173
  definición, 160
  ecuación de Nernst, 166-167
  potencial químico, 160-163
  proteínas transportadoras, 177
Transporte polar
  basipétalo, 822-823
  definición, 822
  independencia de la gravedad, 823-825
  modelo quimiosmótico, 825-829
  tallos de dicotiledóneas, 837
  transporte no polar por el floema, 833-834
  velocidad, 825
Transporte por el floema
  carga del floema, 386-397
  descarga del floema, 397-400
  estímulo floral, 1102-1103, 1117
  estrés hídrico, 1143-1144
  función de los elementos cribosos, 362-364
  gimnospermas, 386
  materiales transportados, 374-379
  modelo de flujo de presión, 379-386
  primeros experimentos, 363
  asignación y reparto de los fotoasimilados, 402-411
  rutas de fuente a sumidero, 372-374
  transición de sumidero a fuente, 372-374
  transporte a larga distancia de las moléculas de señalización, 410-411
  velocidades de transporte, 378
Transporte por el xilema
  características físicas, 93–94
  carga, 195-198
  cavitación, 94
  evaporación del agua de las hojas, 95, 97
  gradientes de presión, 92
  presión radical y gutación, 87-88
  teoría de la cohesión-tensión, 93
Trapezond (cultivo de tabaco), 1115
Traqueidas, 6f, 89, 90
Trébol, 362f
  formas de transporte de nitrógeno, 509-510
  rhizobia, 499t, 500t
  sección transversal del tallo, 589f
Trébol blanco, 494f, 1097
Triacilgliceroles, 29, 464
  almacenamiento en oleosomas, 464-466
  características estructurales, 465
  componentes de los ácidos grasos, 465
  conversión en carbohidratos, 473, 474f, 475
  síntesis, 468-470
p-Trifluorometoxicarbonilcianuro fenilhidrazona (FCCP), 447

Trifolium
  formas de transporte de nitrógeno, 509-510
  rhizobia, 500t
  sección transversal del haz vascular, 363f
  sección transversal del tallo, 587f
Trifolium repens, 1097
Trigo, 737, 1097
Trigo de invierno, 1170
Triosa fosfato
  ciclo de Calvin, 273f, 274, 277-278, 281-282
  como factor limitante de la fotosíntesis, 316-317
  control de la síntesis de almidón y sacarosa, 306-308
  asignación de fotoasimilados, 402-405
  glicólisis, 424-425, 426f, 427
  síntesis de almidón, 301, 301f, 302t
  síntesis de sacarosa, 303-304t
  temperatura, 354
Triosa fosfato isomerasa, 273f, 274t, 303t
Triple respuesta al etileno
  expansión lateral celular, 1015
  gancho apical, 1007
Triptófano, 815
Triptófano monooxigenasa, 816
Triterpenos, 537f, 538, 570
Triticum aestivum, 1097
tRNA. *Véase* RNA de transferencia
tRNA-IPT, 957-958
Tropano, 559t
Tubo criboso, 366
Tubo de infección, 505, 506f
Tubo polínico, 34
Tubulina, 30
Tumores, 945
  de gallo, 945, 954, 954f
  genéticos, 969-970
  neoplásticos, 945
Tween 80, 138
Typha angustifolia, 1187
Tyria jacobeae, 560

U
Ubiquinona, 441f, 442, 453
Ubiquitina, 38
  degradación del fitocromo, 720
  factores de respuesta a las auxinas, 869
  proteasas inducidas por el estrés, 1148
UDP, 425, 426f
UDP-glucosa, 597, 599f
  glicólisis, 425, 426f
  síntesis de sacarosa, 305
Umbeliferinas, 546, 547f
Umbeliferona, 547f
Umbral de turgencia, 621
Unidades de isopreno, 536
Ureasa, 133
Ureidos
  estructura, 376f
  formas de transporte de nitrógeno, 509-510, 510f
  transporte por el xilema, 377
Uridina, 506
Uridina difosfato D-glucosa, 597, 599f
UTP, 425, 426f
Uva, 191t
Uvas sin semillas, 889
Uvas sin semillas Thompson, 889f

V
Vacuola, 19, 20
  ajuste osmótico, 1141
  ATPasa, 189-191
  concentraciones de iones, 169-170
  estrés salino, 1176, 1177
  H^+-pirofosfatasa, 191
  hiperacidificación, 191
  pH, 190
  procesos de transporte, 181f
  proteínas transportadoras al casete de unión de ATP, 192
  tolerancia a la sal, 142
Vacuolas líticas, 21
Vaina de almidón, 649, 848
Vaina del haz, 362
Vainillina, 547f

Vanadato, 187, 189, 780
Vapor de agua, en la transpiración de la hoja, 99-101
Variedades quiméricas, 678-679
Vasos, 91
Vástago
  análisis cinético del crecimiento, 692-693
  asimilación del nitrato, 493
  biosíntesis de giberelinas, 900
  cambio de fase, 1081-1089
  componente, 2
  dominancia apical, 857-859
  gravitropismo, 848-851
  lesión por raíces anóxicas o hipóxicas, 1184-1185
  transporte de citoquininas, 958-960
  zonas de crecimiento, 693
  Véase también Tallo
V-ATPasa, 189-191
Vaucheria, 765
Velocidad de la luz, 207
Velocidad de transporte por el floema, 378
Veneno de cicuta, 559
Verbascosa, 376f
Vernalización
  competencia, 1108-111
  regulación epigenética, 1110
  respuesta fotoperiódica, 1097
  rutas de floración, 906-907, 1119-1120, 1119f
  visión general, 1107-1108
Verticilos, de los meristemos florales, 1072-1073
Vesículas
  de micorrizas, 152
  secretoras, 19, 20f
  recubiertas, 19, 20f
  recubiertas de clatrina, 19, 20f
Vicia faba
  acumulación de zeaxantina, 789-793
  apertura estomática estimulada por la luz, 774-779
  bomba de protones de la membrana plasmática de las células guarda, 779
  distribución de rubisco en las hojas, 346
  formas de transporte de nitrógeno, 509-510
  protoplastos, 26f
  proteína quinasa activada por ABA, 1056
    transporte por el floema, 383f
  Véase también Alubia; Haba; Judía
Vigna, 510
Vigna unguiculata, 1137, 1142f
Vincapervinca de Madagascar, 568-569
Vino tinto, 556
Violaxantina, 253, 333, 799, 1032f, 1033
Virus, movimientos de proteínas, 689
Vitamina B, 495f, 497
Vitamina B_6, ácido nicotínico, 558
Vitis, 1085t
Viviparidad, 1033, 1042-1043
Volatilización, 487t

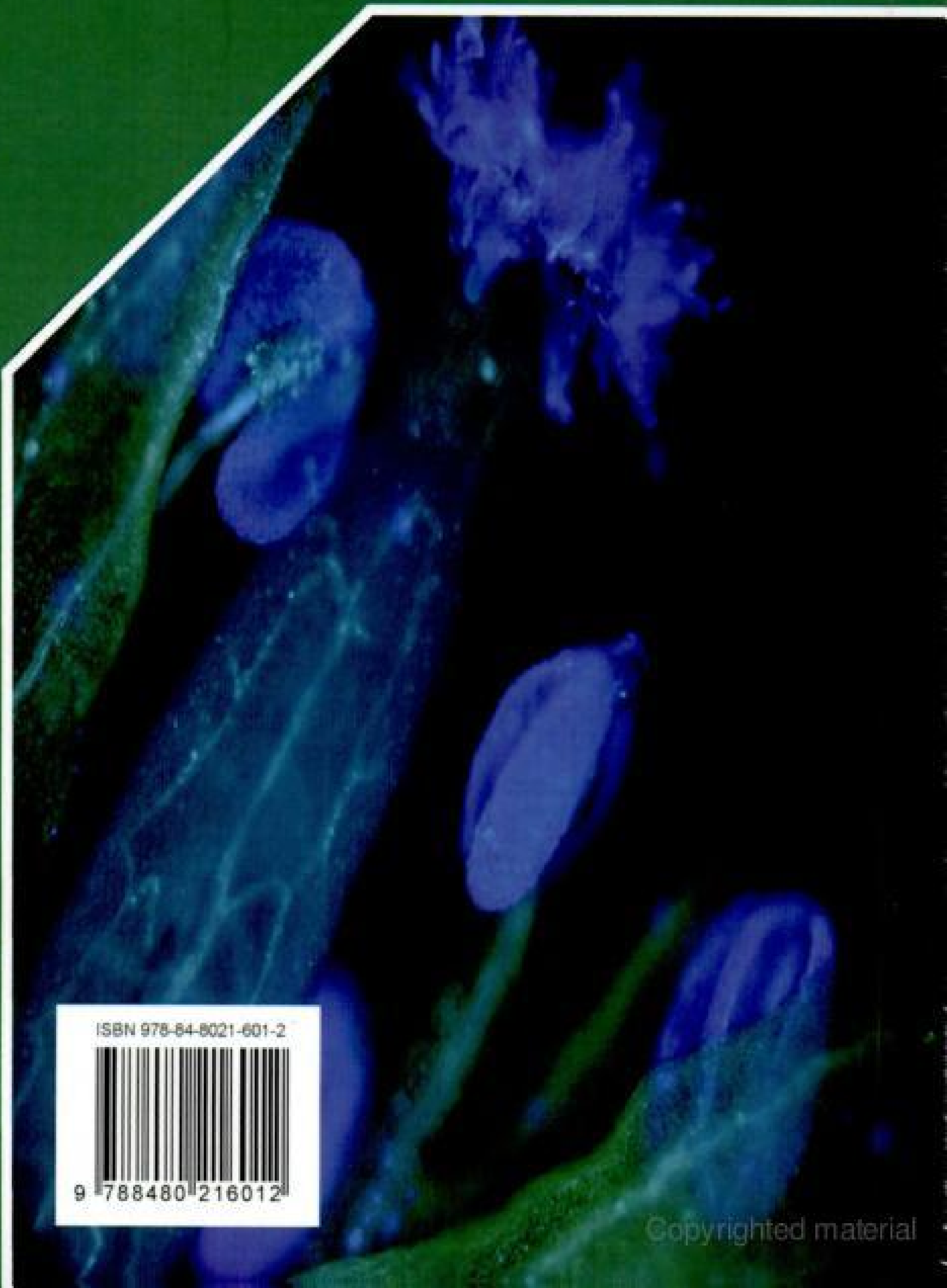
W
Went, Fritz, 808f, 810, 812, 844
White, Philip, 945, 946
WiT, H. T., 236

X
Xanthium
  inducción indirecta, 1113-1114
  nitrato y compuestos nitrogenados por la savia del xilema, 494f
  respuestas del fitocromo, 712t
Xanthium strumarium
  estudios del estímulo floral mediante injertos, 1113
  interrupciones nocturnas, 1099-1100
  metabolismo del nitrato, 493-494
  período oscuro, 1099
Xantofilas, 253-255
Xantoxal, 1032f, 1033
Xantoxina, 1033
Xilano, 593, 599
Xilema, 6f
  cavitación, 1143
  diferenciación inducida por auxinas, 863-864

elementos de las traqueidas, 89
formas de transporte de nitrógeno, 509-510
muerte celular programada, 698-699
nervios de las hojas, 95-97
potencial de presión, 74-75
raíces, 143-147
transporte de ácido abscísico, 1035-1036
transporte de citoquininas, 958-958
transporte de compuestos nitrogenados, 377
transporte de iones, 193-198
Xiloglucano, 592, 597, 602, 602f, 609f, 610, 630
Xiloglucano endosiltransferasa (XET), 609f, 610, 627, 915
β-D-Xilosa, 595f
Xilosidasas, 628
Xilulosa-5-fosfato, 273f, 276

Y
Yema
competencia y determinación, 1086-1089
etileno y dormición, 1008
formación en musgos, 968
tasa de respiración, 458
Yema apical, biosíntesis de giberelinas, 900
Yemas axilares, 5, 660
citoquininas, 967
dominancia apical, 857-859
Yemas latentes, ácido abscísico, 1043-1044
Yemas laterales
citoquininas, 967
dominancia apical, 857-859
Yeso, 141

Z
Zea mays
cierre estomático inducido por un déficit hídrico, 1138
conjugados de auxinas y germinación de la semilla, 820
crecimiento de plántulas etioladas, 710f
fotoinhibición, 339
sección transversal de una hoja, 290f
Véase también Maíz
Zeatina
biosíntesis por *Agrobacterium*, 954-957
configuraciones, 948
descubrimiento, 948
estructura, 948
forma activa hormonalmente, 951-952
leche de coco, 946, 947
metabolismo, 960-961
secretada por microorganismos, 952-953
Zeatina isomerasa, 948
Zeaxantina, 253, 333
ciclo de las xantofilas, 799
fotorrecepción de la luz del azul en las células guarda, 789-794
isomerización y apertura esomática inducida por la luz del azul, 796-799
Zeaxantina epoxidasa (ZEP), 1032f, 1033
Zeitgebers, 1090
Zigoto, 638
número de células y crecimiento, 690-691
Zona
de abscisión, 861
de abscisión y producción de etileno regulada por auxinas, 1011-1014
de abscisión y reanudación de la división celular, 944
de crecimiento, 693, 808-810
de reducción de la concentración de nutrientes, 134
de elongación, en raíces, 147, 666
de elongación distal (DEZ), 853
de maduración, en raíces, 147, 666
de reducción de nutrientes, 149
medular, de los meristemos apicales caulinares, 659
meristemática, en las raíces, 144, 666
óptima, de concentración de nutrientes, 134
periférica, del meristemo apical caulinar, 659
tóxica, de concentración de nutrientes, 134



ISBN 978-84-8021-601-2

9 788480 216012